

JULIANO PELIÇÃO MOLINO

**LACTOSE E GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO EM RAÇÕES PARA  
LEITÕES DESMAMADOS AOS 21 DIAS DE IDADE**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como parte  
das exigências do Programa de Pós  
Graduação em Zootecnia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009

JULIANO PELIÇÃO MOLINO

**LACTOSE E GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO EM RAÇÕES PARA  
LEITÕES DESMAMADOS AOS 21 DIAS DE IDADE**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como parte  
das exigências do Programa de Pós  
Graduação em Zootecnia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

**APROVADA: em 29 de julho de 2009.**

---

Prof. Aloízio Soares Ferreira  
(Coorientador)

---

Prof. Rita Flávia Miranda de Oliveira  
(Coorientador)

---

Prof. Douglas Haese

---

Prof. Célia Alencar de Moraes

---

Prof. Juarez Lopes Donzele  
(Orientador)

*Aos meus pais, Molino e Iraci,*

*a Nana e Bruno, e*

*a minha companheira Priscila,*

**Dedico.**

***“Não estaremos perdidos!  
Pelo contrário, venceremos, se não tivermos desaprendido a aprender sempre!!!”***

**(Rosa Luxemburgo)**

## **AGRADECIMENTOS**

À universidade Federal de Viçosa (UFV), especialmente ao Departamento de Zootecnia (DZO), por me acolherem na realização deste trabalho.

Ao professor orientador Juarez Lopes Donzele, pela orientação, incentivo e confiança acima de tudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores conselheiros, Aloizio Soares Ferreira e Rita Flávia Miranda de Oliveira, pela amizade e contribuição.

À professora Célia Alencar de Moraes do Departamento de Microbiologia da UFV, pela clareza de suas idéias e enriquecimento do trabalho.

Ao Professor da Universidade de Vila Velha, Douglas Haese, pela amizade e incentivo, desde o início.

Aos colegas de pós-graduação Alysson Saraiva e Eduardo Fortes, pelo imprescindível auxílio na condução do experimento e ao amigo Eric Balbino pela grande ajuda na formatação e confecção do trabalho escrito.

Aos bolsistas Matheus, Cinthia e Rafael, estagiários do setor de suinocultura pela amizade e ajuda na condução do experimento.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura do DZO, Vitor, Chico, Tonzin, Marreco, Raimundo, Zé Bié, e especialmente Dedeco – sem eles não seria possível.

Às estudantes de pós-graduação do Departamento de Microbiologia, Alessandra e Ana Paula, do Laboratório de Microbiologia Industrial - Bioagro, e todos da equipe da Profª Célia, pela realização das análises microbiológicas e pela acolhida em seu grupo.

Aos funcionários do Laboratório de Histologia Veterinária, Adão e Cláudio.

À todos os estudantes de pós-graduação do DZO, em especial à Silvano, Albano, Anderson Lazarini, Fabrício, Will, Ana Paula, Fernando, Veredino, Gabriel, Leandro, Evandro, e outros acima citados, pela amizade e convivência nestes dois anos. Ao professor da UFPI, Márvio L. T. Abreu

Aos companheiros da minha república, Alexandre (Cajú), Merci e Rafael pela amizade e paciência.

Aos amigos Marcelo Curitiba, Gilberto, Patrick, pela acolhida em viçosa e pelos momentos de descontração e almoços de domingo, e a todos os “alegrenses” em viçosa.

Aos amigos do “Clube Raízes da Viola” de Viçosa, pelas horas felizes de moda de viola.

Aos eternos amigos da República Varandão (Alegre - ES), Matheus, Ezequiel, Weliton, Edilson, Alemão, Luciano e Alexandre Junca (*in memoriam*).

Agradeço finalmente a todos os meus familiares, especialmente meus pais e minha irmã, pelo incentivo e encorajamento incondicional, e à minha namorada e companheira Priscila, pelo amor e apoio e nos momentos difíceis, e por suportar a distância nestes dois anos.

A todos que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

Juliano Pelicão Molino, filho de José Amauri Molino e Iraci Maria Pelicão Molino, nasceu em Colatina, Espírito Santo, em 15 de julho de 1981.

Em setembro de 1999, iniciou no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES) o curso de Zootecnia, concluindo-o em outubro de 2004.

Em Março de 2005, foi contratado pela Escola Família Agrícola do Bley – MEPES em São Gabriel da Palha, ES, como Professor/Monitor.

Em agosto de 2007, ingressou no Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), nível de mestrado, na área de Nutrição de Monogástricos, submetendo-se à defesa de tese em julho de 2009.

## ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. O PROCESSO DA DESMAMA.....	4
2.2. LACTOSE E DESEMPENHO.....	8
2.3. GLUTAMINA E DESEMPENHO.....	12
3. LITERATURA CONSULTADA.....	15
CAPÍTULO 1	
<b>NÍVEIS DE LACTOSE EM RAÇÕES PARA LEITÕES DESMAMADOS</b>	
<b>AOS 21 DIAS DE IDADE.....</b>	<b>20</b>
<b>LACTOSE LEVELS IN DIETS FOR PIGLETS WEANED WITH 21 DAYS</b>	
<b>OF AGE.....</b>	<b>21</b>
1. Introdução.....	22
2. Material e Métodos.....	24
3. Resultados e Discussão.....	30
4. Conclusão.....	45
5. Literatura Consultada.....	46

## CAPÍTULO 2

<b>GLUTAMINA + ÁCIDO GLUTÂMICO EM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE LACTOSE PARA LEITÕES DESMAMADOS AOS 21 DIAS DE IDADE.....</b>	<b>49</b>
<b>GLUTAMINE PLUS GLUTAMIC ACID IN DIETS WITH DIFERENT LACTOSE LEVELS FOR PIGLETS WEANED WITH 21 DAYS OF AGE....</b>	<b>50</b>
1. Introdução.....	51
2. Material e Métodos.....	53
3. Resultados e Discussão.....	59
4. Conclusão.....	60
5. Literatura Consultada.....	70

## RESUMO

MOLINO, Juliano Pelicão, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009. **Lactose e L-glutamine mais L-ácido glutâmico em rações para leitões desmamados aos 21 dias de idade.** Orientador: Juarez Lopes Donzele. Co-orientadores: Aloízio Soares Ferreira e Rita Flávia Miranda de Oliveira.

Com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes níveis de lactose e da inclusão de glutamina + ácido glutâmico nas rações sobre o desempenho, a morfometria da mucosa e a composição da microbiota intestinal dos animais, utilizou-se 126 suínos mestiços comerciais, desmamados aos  $21 \pm 1$  dias de idade, com peso inicial de  $6,12 \pm 0,70$  Kg, distribuídos em delineamento de blocos ao acaso. Foram realizados dois experimentos. No experimento 1, os tratamentos consistiram em rações contendo 0, 4, 8 e 12% de lactose dos 21 aos 35 dias, com seis repetições e três animais por unidade experimental. No experimento 2 testou-se a inclusão de glutamina mais ácido glutâmico nas rações contendo 0, 4 e 8% de lactose, também com seis repetições e três animais por unidade experimental. Dos 36 aos 49 dias, nos dois experimentos, todas as rações foram isentas de lactose e os animais que receberam suplementação com glutamina mais ácido glutâmico dos 21 aos 35 dias no experimento 2 continuaram sendo suplementados até o final do experimento. Avaliou-se o desempenho dos animais dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias, a morfometria da mucosa intestinal e composição da microbiota intestinal aos 49 dias. As rações experimentais fareladas, isoprotéicas e isoenergéticas, foram formuladas observando-se o conceito de proteína ideal, mantendo-se constantes as relações aminoacídicas entre lisina e os demais aminoácidos essenciais. Todas as rações continham 2% de plasma sanguíneo “spray dried” em sua composição e 0,05% do

antibiótico tilosina como promotor de crescimento. No Experimento 1, os níveis de lactose não influenciaram ( $P < 0,05$ ) o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar dos leitões dos 21 aos 35 dias de idade. Também não foi observado efeito ( $P < 0,05$ ) residual da lactose sobre os parâmetros de desempenho, dos 21 aos 49 dias de idade. Apesar de não ter sido observado diferença significativa entre os tratamentos, observou-se que em valores absolutos os animais do tratamento com 0% de lactose apresentaram desempenho inferior ao dos animais alimentados com rações contendo 4, 8 ou 12% de lactose. Os tratamentos também não influenciaram ( $P < 0,05$ ) a altura das vilosidades, a profundidade das criptas e a relação vilosidade:cripta da mucosa do intestino delgado. O aumento do nível de lactose das rações alterou a composição da microbiota intestinal dos animais, promovendo aumento da quantidade de *Lactobacillus* spp. em relação ao total de *Eubactéria*. No experimento 2 não foi observada interação ( $P > 0,05$ ) entre o nível de lactose e a inclusão de glutamina + ácido glutâmico sobre nenhum dos parâmetros avaliados, tanto de 21 a 35 dias quanto no período total do experimento. Os níveis de lactose também não influenciaram ( $P < 0,05$ ) o desempenho dos leitões nos dois períodos avaliados. Entretanto, em valores absolutos, o tratamento com 4% de lactose apresentou os melhores resultados de ganho de peso e consumo de ração nos dois períodos. A inclusão de glutamina mais ácido glutâmico nas rações influenciou ( $P < 0,05$ ) positivamente o ganho de peso dos leitões dos 21 aos 49 dias de idade e promoveu aumento ( $P < 0,05$ ) da altura das vilosidades no duodeno, jejuno e íleo do intestino dos leitões. Na porção do intestino correspondente ao íleo, foi observado efeito ( $P < 0,05$ ) da inclusão de glutamina mais ácido glutâmico nas dietas sobre a relação vilosidade:cripta dos leitões. Com base nos resultados obtidos nos dois experimentos, pode-se concluir que a lactose tem efeito positivo sobre a ecologia microbiana intestinal dos leitões e que a inclusão de glutamina mais ácido glutâmico nas rações tem efeito benéfico sobre o desempenho e sobre a altura das vilosidades da mucosa intestinal dos animais.

## ABSTRACT

MOLINO, Juliano Pelicão, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Lactose and L-glutamine plus L-glutamic acid in diets for piglets weaned at 21 days of age.** Advisor: Juarez Lopes Donzele. Co-advisors: Aloízio Soares Ferreira and Rita Flávia Miranda de Oliveira.

126 commercial crossbred pigs weaned at  $21 \pm 1$  days of age, with initial weight of  $6.12 \pm 0.70$  kg, were allocated in randomized complete block designs. Two experiments were carried out to evaluate the effect of different levels of lactose and supplementation with glutamine and glutamic acid in pig diets on the performance, mucosa morphology and intestinal flora composition. Experiment 1 consisted of diets containing 0, 4, 8 and 12% lactose administered between 21 and 35 of age, conducted in six replicates with three animals per experimental unit. Diets in experiment 2 contained 0, 4 and 8% of lactose added with glutamine and glutamic acid, conducted in six replicates with three animals per experimental unit. Diets were lactose-free between days 36 and 49 in both experiments. Glutamine and glutamic acid supplementation from day 21 to 35 in animals from experiment 2 was maintained until the end of the experiment. Animal performance was evaluated between days 21 and 35 and between days 21 and 49. Intestinal mucosa morphology and intestinal flora composition were assayed at day 49. The ideal protein concept was used to prepare the isonitrogenous and isocaloric experimental mash diets, maintaining a constant relationship between lysine and other amino acids. Diets contained 2% spray-dried plasma and 0.05% tylosin growth promoter. No influence ( $P < 0.05$ ) was observed of the lactose levels on animal weight gain, feed intake and feed conversion between days 21 and 35 in experiment 1, and no

residual effect of lactose ( $P < 0.05$ ) on the performance parameters, from day 21 to 49. Animals fed with diets containing 4, 8 or 12% lactose showed higher performance than animals fed with 0% lactose in absolute values, although there was no significant difference between the treatments. Villus height, crypt depth and the villus/crypt (small intestine) relationship were not affected by treatments. Augmented lactose levels altered the intestinal flora composition, increasing the number of *Lactobacillus* spp. in relation to total *Eubacteria*. Experiment 2 showed no effect of the interaction ( $P > 0.05$ ) between lactose levels and glutamine and glutamic acid addition on the evaluated parameters, between 21 and 35 days and in the total experimental period. Lactose levels did not affect ( $P < 0.05$ ) animal performance in both periods. In absolute values, however, the treatment with 4% lactose had the best results of weight gain and feed intake in both periods. Addition of glutamine and glutamic acid in the diets affected ( $P < 0.05$ ) positive weight gain of piglets (days 21 to 49) and increased ( $P < 0.05$ ) villus height in the duodenum, jejunum and ileum of weaning piglets. Effect ( $P < 0.05$ ) of the addition of glutamine and glutamic acid on the villus/crypt relation was observed in the ileum. The experiments showed that lactose exerted a positive effect on the intestinal microbial ecology of pigs. The addition of glutamine and glutamic acid in the diets enhanced animal performance and intestinal villus height.

## **1 – INTRODUÇÃO GERAL**

A alimentação de suínos em sistema intensivo tem sido, nos últimos anos, fracionada de acordo com o estágio do desenvolvimento e com a categoria. Esta prática permite que sejam adequados os níveis de nutrientes da dieta com as exigências dos animais.

Sem a interferência humana, os suínos jovens seriam nutricionalmente independentes ao atingirem entre 15 e 20 Kg, o que ocorreria perto dos 70 dias de idade (Whittemore & Green, 2001). Entretanto, devido à necessidade de otimizar o sistema de produção com o aumento do nº de leitões nascidos por porca/ano, a técnica do desmame precoce tem sido utilizada. A “independência forçada” dos leitões para perto dos 21 dias de idade foi possível melhorando-se as rações, com a inclusão de ingredientes funcionais, altamente digestíveis e nutritivos, melhorando-se o ambiente, com medidas que visaram proporcionar maior conforto, além de melhorias sanitárias, pela administração de medicamentos mais eficazes e antibióticos como melhoradores do desempenho. Com isso, alcançou-se índices produtivos aceitáveis, porém ainda não ótimos.

A maior dificuldade consiste em encontrar um alimento que substitua o leite materno, e que associado as outras medidas de manejo possam suprir todas as necessidades dos leitões. É sabido que nas duas primeiras semanas após a desmama ocorre depressão do desempenho, tanto em consumo de ração quanto em ganho de peso.

Na ocasião da desmama tem-se verificado desuniformidade de peso entre os leitões de uma mesma leitegada, reduzida capacidade de digestão, baixo consumo de

alimento e com a imunidade deprimida, ao mesmo tempo em que é extremamente importante que os suínos recém desmamados consumam ração o mais rápido possível, mantenham o ganho de peso em constante ascensão e que se reduza a ocorrência de diarreias e mortalidade. Aumentar a produtividade na ocasião da desmama torna-se, então, um desafio.

Contudo, avanços consideráveis têm sido conseguidos. A utilização de aminoácidos industriais, lactose e derivados do leite, plasma sanguíneo e outros ingredientes nas rações de leitões desmamados precocemente têm proporcionado melhora no desempenho. Uma mudança de paradigma ocorrida nas últimas décadas tem contribuído para este avanço: Estudos mais recentes têm dado atenção para questões que extrapolam ao desempenho e consideram também outros aspectos da produção, como a observação de parâmetros fisiológicos e metabólicos, a interação entre o animal e ambiente, microbiota, nutrição funcional, etc.

Na nutrição de leitões, a lactose tem se mostrado, como um ingrediente indispensável em rações pré-iniciais. Porém, este açúcar, que também é utilizado na alimentação humana, tem sido de elevado custo nos últimos anos, elevando consequentemente o custo das rações. Assim, existe a demanda de estratégias nutricionais para leitões na fase pós-desmama que sejam capazes de manter em níveis satisfatórios a saúde e o desempenho dos animais.

A glutamina tem sido considerada um aminoácido condicionalmente essencial para leitões. O efeito da glutamina sobre a multiplicação dos enterócitos na mucosa intestinal e sua mobilização para produção de células de defesa em situação de estresse imunológico determinam sua condição de essencialidade no período correspondente à desmama. Da mesma forma, o ácido glutâmico sintetizado no organismo a partir da glutamina e diferindo desta apenas pela ausência do grupo amida, possui funções corporais importantes, que se assemelham à função da glutamina. Portanto, a inclusão de glutamina + ácido glutâmico pode contribuir para a atenuação do efeito estressante da desmama precoce dos leitões e refletir no desempenho zootécnico.

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito dos níveis de inclusão de lactose e da inclusão de glutamina + ácido glutâmico em rações de leitões desmamados aos 21 dias de idade sobre o desempenho, a morfometria da mucosa intestinal e a composição microbiana intestinal dos animais.

Esta tese foi redigida em capítulos, seguindo-se as normas para feitura de tese da UFV e os Capítulos 1 e 2 foram redigidos foram redigidos seguindo-se as normas para publicação de artigos na Revista Brasileira de Zootecnia.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. O processo da desmama**

A intensificação da produção de suínos proporcionou uma antecipação da idade a desmama, hoje realizada precocemente, com o intuito de aumentar a produtividade anual das porcas. Esta fase é considerada crítica e tem se mostrado traumática na vida dos suínos, devido principalmente à troca da alimentação líquida para a alimentação sólida, supressão da imunidade passiva, troca de ambiente, tensões sociais devido ao reagrupamento da leitegada, à dificuldade de adaptação aos cochos e bebedouros, além do desconforto da apartação da mãe (Moraes et al., 1998).

Como consequência, ocorrem alterações no comportamento alimentar. Em revisão sobre o assunto, Van Hees et al., (2004) relataram que em comparação com leitões desmamados naturalmente, leitões desmamados precocemente reduzem o tempo dispensado à alimentação, diminuem a frequência de visita aos comedouros elevando a quantidade ingerida por visita, têm dificuldade de iniciar a alimentação, devido a ausência das vocalizações sincronizadoras da porca, competem mais por espaço nos comedouros e estão mais susceptíveis à agressões devido às constantes alterações na ordem hierárquica do grupo. O resultado da antecipação da desmama é a produção

de leitões com competência, comportamental e imunológica comprometida (Van Hees et al., 2004), e com necessidades nutricionais diferenciadas.

Os processos da desmama, em geral, proporcionam ainda profundas alterações fisiológicas nos animais. As principais alterações ocorrem devido à mudança na dieta, que refletem na estrutura e função da mucosa intestinal do intestino delgado, na composição da microbiota ao longo do trato e no perfil enzimático digestivo dos leitões (Kely & King, 2001). O trato gastro-intestinal representa uma complexa interface entre o animal e ambiente. Estudos sobre as interações entre nutrição, fisiologia e imunologia e sua relevância nas funções corporais são fundamentais para a solução de problemas de desempenho pós-desmama de suínos.

As primeiras semanas após o parto correspondem ao período em que o animal apresenta intenso desenvolvimento das vísceras em relação ao restante do corpo. Este desenvolvimento ocorre principalmente em órgãos responsáveis pela produção de enzimas digestivas, como o pâncreas, e no desenvolvimento da mucosa intestinal, e determina a futura capacidade digestiva e absorptiva do animal (Lopes et al., 2005a).

A maior porção da dieta de suínos é constituída de carboidratos, e sua composição varia bastante do nascimento até a maturidade. O principal carboidrato do leite é a lactose, ao passo que animais adultos possuem uma dieta com carboidratos mais complexos em estrutura e composição química. A alteração da dieta na ocasião da desmama proporciona, por conseguinte, uma alteração na atividade enzimática digestiva (Bach-Knudsen and Jørgensen, 2000). A substituição do leite – rico em lactose e altamente digestível – por ração sólida exige uma adaptação do TGI dos animais, em função da necessidade de produção de enzimas para digerir os produtos da degradação do amido, como a maltase (Etheridge et al., 1984). Bird et al., (1995) reportam que a atividade da enzima lactase, responsável pela degradação da lactose em galactose + glicose decresce rapidamente nas duas primeiras semanas de vida dos leitões e continua decrescendo gradualmente até a oitava semana. Enquanto isso, a taxa de produção de outras enzimas digestivas como sucrase, maltase e proteases, está em aumento gradual (Leichter et al., 1973; Ekstrom et al., 1975). Assim, os leitões são apartados da mãe ainda com ineficiente produção de enzimas digestivas para ótima utilização dos carboidratos das rações, elaboradas nos trópicos principalmente a base de cereais como o milho e o farelo de soja.

O estresse da desmama também influencia negativamente a estrutura e a função da mucosa intestinal dos leitões. Os maiores problemas ocorrem pela queda no consumo

de alimento. A superfície da mucosa intestinal de suínos possui projeções chamadas vilosidades, onde há intensa atividade enzimática e transporte de nutrientes. As vilosidades são acompanhadas por glândulas adjacentes chamadas criptas de Lieberkuhn, onde ocorre secreção de muco e proliferação celular. (Frappier, 2006) Quando o consumo é satisfatório, há aumento global na secreção de hormônios gastro-intestinais, resultando em maior proliferação celular nas criptas do epitélio intestinal, acompanhado por um aumento no comprimento das vilosidades (Herdt, 1999). A capacidade de utilização dos nutrientes da ração pelos animais é função, entre outros fatores, da superfície do epitélio em contato com os alimentos. A abrupta mudança da ração associada com os outros processos da desmama implicam na redução altura das vilosidades e no aumento da profundidade das criptas da mucosa intestinal, refletindo na eficiência com que os leitões desmamados digerem e absorvem o alimento que consomem. A atrofia das vilosidades é causada tanto por aumento da taxa de perdas celulares ou por redução da taxa de renovação celular (Pluske et al., 1997).

Outro aspecto importante da produção é a interação existente entre o animal e a população microbiana existente no trato digestivo. A microbiota que habita o lúmen intestinal é parte de um complexo ecossistema, cuja estabilidade depende da interação entre o hospedeiro e o microorganismo. O resultado desta interação são milhares de nichos, sendo cada um habitado por grupos de microorganismos mais bem adaptados ao local, para a exclusão de outros (Hirsh, 2003).

Dentre as centenas de espécies de microorganismos entéricos, uma grande parte é potencialmente patogênica. No entanto, a própria colonização bacteriana denominada normal, residente no intestino, promove proteção contra estes microorganismos, valendo-se, para isto, de propriedades bacterianas e do hospedeiro. A dinâmica da colonização do trato digestivo é bastante organizada, dependendo em parte de produtos secretados por microorganismos (microcinas, bacteriocinas e ácidos graxos voláteis) e em parte por produtos secretados pelo hospedeiro (meio ácido do estômago, defensinas, conteúdos da bile, etc) (Gershwin, 2003).

A microbiota normal, adquirida pelo leitão desde o nascimento e estabelecida no intestino, forma nichos particulares ao longo de todo o trato digestivo, formando, assim, uma barreira à colonização por patógenos (Williams et. al, 2001). Microorganismos do aparelho digestivo competem por sítios de adesão. Para que haja algum dano causado por um microorganismo patogênico, é necessário que ocorra adesão deste à parede do intestino (Hirsh, 2003). A barreira à colonização proporcionada pela microbiota

residente normal, juntamente com a produção de ácidos graxos voláteis (AGV's) no intestino constituem a principal defesa contra a ocorrência de possíveis danos causados por patógenos (Williams, et al., 2001).

Quando a composição da dieta é alterada, altera-se também a composição da microbiota intestinal (Pluske, 1997). Nos últimos anos, tem-se desenvolvido pesquisas buscando alimentos que promovam o crescimento das populações de organismos benéficos, em detrimento da diminuição da população de organismos causadores de doenças. Desse modo, elucidando como se comporta a população microbiana entérica e sua influência na saúde dos suínos, é concreta a possibilidade de manipulação das dietas dos leitões para melhorar a saúde e atenuar os efeitos danosos da desmama.

O processo da desmama, como um todo, é responsável por uma decorrente debilidade no organismo dos leitões, devido à ocorrência dos vários agentes estressores que acometem os animais nesta época. Essa debilidade promove, inevitavelmente, uma ativação dos mecanismos de defesa do animal que, conforme a intensidade pode alterar as necessidades nutricionais e o desempenho.

A modulação das respostas imunológicas desencadeadas em condição de estresse imunológico é realizada por proteínas chamadas citocinas. A complexa rede de interações citocínicas faz com que, por meio de desafios antigênicos distintos, citocinas diferentes possam produzir efeitos fisiológicos também diferentes, atuando em conjunto com os sistemas endócrino ou nervoso. (Machado & Fontes, 2005).

De acordo com Cunningham-Rundles, (2002), deficiência imunológica ou suscetibilidade a infecções pode ser resultado de uma condição de deficiência nutricional, pois a resposta imune é intimamente ligada ao estado nutricional do organismo. O sistema imune é dependente de aporte protéico para a produção dos seus componentes, como imunoglobulinas, proteínas de fase aguda, citocinas, etc. O desencadeamento de uma resposta imunológica proporciona aumento da taxa metabólica basal e altera a partição de nutrientes no organismo. Conseqüentemente, os nutrientes que em ambiente não desafiado estariam disponíveis para ganho de peso são mobilizados para atender a demanda da resposta imunológica (Machado e Fontes, 2005).

Diante do exposto acima, torna-se necessário avaliar a utilização de diferentes níveis de lactose em rações para leitões desmamados precocemente aos 21 dias de idade, assim como a utilização de ingredientes que, mesmo agindo por mecanismo

diferente da lactose, possam tornar os leitões mais preparados para superar período da desmama com desempenho satisfatório.

### **2.3. Lactose e desempenho**

A lactose é um dissacarídeo redutor, composto por uma molécula de galactose e outra de glicose (Luchesi et al., 2008). É um açúcar solúvel em água, encontrado apenas no leite dos mamíferos. As principais fontes de lactose para a alimentação animal são o leite em pó, o soro de leite em pó e mais recentemente a lactose cristalina, com respectivos teores de lactose de 40, 60 e 96%.

O leite é considerado o alimento ideal para os mamíferos jovens, com perfeito balanceamento de nutrientes, em quantidade e temperatura ótimas. Durante a lactação, ocorre diminuição nos teores de proteína, gordura e sólidos totais do leite, enquanto que o teor de lactose permanece, em média, em 5% (Klobasa et al., 1987). Na fase de aleitamento, o leitão utiliza os carboidratos do leite como fonte de energia, principalmente a lactose. Na baixa produção da lactase, a fração da lactose que escapa à digestão no intestino delgado torna-se substrato para a proliferação microbiana no intestino grosso, preferencialmente os microorganismos produtores de ácido láctico como *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacteria* (O'Connell et al., 2005; Kim et al., 1978).

Durante a desmama, os leitões deixam de receber alimento líquido e começam a receber ração sólida, geralmente a base de milho e soja. A utilização de farelo de soja como fonte protéica em rações na fase inicial implica em alterações nas vilosidades do trato gastro-intestinal, resultando em diminuição do consumo de matéria seca e queda no desempenho (Dunsford, et al., 1989; Hancock et al., 1990; Li et al., 1990). Além disso, a soja, que é a principal fonte protéica utilizada em rações para suínos nas fases de crescimento e terminação pode causar hipersensibilidade quando utilizada em rações pré-iniciais, desencadeando respostas do sistema imunológico (Li et al., 1990; Hancock et al., 1990; Dunsford et al., 1989).

A lactose tem sido amplamente utilizada na composição de rações para leitões logo após a desmama. Sua importância tem sido atribuída à melhora da palatabilidade da ração (Bertol et al., 2000), ao aumento do consumo de matéria seca e da digestibilidade do nitrogênio e energia (Mahan, 1992; Sewell & West, 1968); à manutenção da integridade da mucosa ao longo do intestino delgado (Pluske et al.,

1996; Pierce et al., 2005); à acidificação do TGI dos animais (O'Connell et al., 2005; Pierce et al., 2005); incluindo efeitos prébióticos e antipatogênicos (Boehm & Stahl, 2007; Williams et al., 2001).

Estudos de Sewell & West (1968) sugerem que alterações do pH intestinal e na taxa de passagem do alimento pelo TGI poderiam explicar os benefícios trazidos pela inclusão de lactose na dieta de leitões.

Dietas com altos níveis de lactose tendem a aumentar a população de *Lactobacillus* spp. e diminuir a população de coliformes (Pierce et al., 2007, Krause et al., 1995; Pollmann et al., 1980), ao mesmo tempo em que o pH do TGI é reduzido devido ao aumento da produção de lactato (Pierce et al., 2006). Em estudo avaliando o efeito da inoculação com *Lactobacillus acidophilus* (LA) em dietas para leitões, Pollmann et al., (1980) constataram que os maiores valores de ganho de peso foram obtidos quando a inoculação foi combinada com a inclusão de lactose na dieta. Entretanto, após o período de inoculação, os animais que receberam lactose com ou sem inoculação apresentaram contagem de LA similares (Pollmann et al., 1980), indicando que a atividade microbiana é diretamente dependente do carboidrato fornecido (Pollmann et al., 1980; O'Connell et al., 2005).

São inúmeros os trabalhos evidenciando os benefícios obtidos com a inclusão de lactose nas dietas sobre o desempenho de suínos jovens. Lepine et al., (1991) constataram que o efeito positivo do leite em pó sobre o desempenho de leitões alimentados com dietas à base de milho e soja, nas três primeiras semanas após a desmama, pode ser atribuído mais à lactose do que ao teor de proteína do leite. Neste experimento, quando as rações foram suplementadas com lisina e isentas de leite em pó, a resposta em ganho de peso piorou em relação aos tratamentos que continham lisina + leite em pó, indicando que o aumento no ganho de peso é devido a algum componente do leite em pó, certamente a lactose (Lepine et al., 1991). No ano seguinte, Mahan (1992) confirmou que a resposta à inclusão de leite em pó é primeiramente pela ação da lactose e que a contribuição do seu conteúdo de aminoácidos é secundária, porém não desconsiderável.

Estudando a interação entre os níveis de lactose e extrato de algas (*Laminaria* spp.), Gahan et al., (2008) constataram que o aumento do nível de lactose da dieta promoveu melhora nos parâmetros intestinais analisados, que foi acompanhado por um melhor ganho de peso e consumo de ração.

Por outro lado, Lopes et al., (2005a) constataram que o melhor desempenho dos leitões alimentados com ração à base de milho e soja foi observado quando a inclusão de lactose foi combinada ao maior nível de lisina (1,50%), independente do peso ao desmame e da fonte de lactose.

Os resultados encontrados por Lepine et al., (1991) e Mahan (1992) estão de acordo com os obtidos por Cera et al., (1988), que trabalharam com rações contendo leite em pó combinado com óleo de milho para leitões desmamados aos 21 dias de idade, pois também ficou evidenciado que o consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar foram melhores quando a dieta continha leite em pó. A hipótese de que a inclusão de óleo de milho na ração levaria a um melhor desempenho devido ao aumento da digestibilidade da energia não foi constatada, sugerindo que a melhora do desempenho nas primeiras quatro semanas pós-desmama seria também atribuída ao leite em pó (Cera et al., 1988).

A acidificação do TGI também está associada com melhora da saúde da mucosa e com a redução da proliferação de *Escherichia coli* (Thomlinson & Lawrence, 1981). Além dos efeitos sobre a microbiota, a inclusão de lactose na ração de leitões na fase pré-inicial é capaz de manter a integridade da estrutura da mucosa do intestino delgado (Pluske et al., 1996), devido à manutenção do consumo de alimento.

Spreeuwenberg et al., (2001) relatam que dietas com alta taxa lactose:proteína proporcionaram aumento da altura das vilosidades nos primeiros quatro dias pós-desmama, embora o consumo de alimento neste período tenha decrescido independente da composição da dieta. Pluske et al., (1996) também constataram que o fornecimento de leite de vaca para leitões desmamados foi capaz de manter a altura das vilosidades da mucosa do intestino delgado após cinco dias de ingestão deste ingrediente.

Em contrapartida, Vente-Spreeuwenberg et al., (2003) não encontraram efeito significativo da inclusão de lactose na dieta sobre a altura de vilosidades de leitões quando comparados com dietas contendo glicose ou amido como fonte de carboidrato. Este resultado foi atribuído à baixa incidência de diarreia do plantel (16%), indicando que a resposta à lactose pode ser maior quando o desafio sanitário é mais acentuado.

Os efeitos positivos da lactose na nutrição de suínos jovens são conhecidos já há algum tempo. Entretanto, algumas pesquisas recentes têm buscado substitutos para a lactose, que podem atuar sobre o desempenho de forma semelhante à lactose ou por mecanismos fisiológicos diferentes (Mathew et al., 1997; Pierce et al., 2007; Kamphues et al., 2007; Lucchesi et al., 2008).

O uso do galactosil lactose, um trissacarídeo produzido pela conversão enzimática da lactose não proporcionou melhora no desempenho de leitões ou digestibilidade de nutrientes, bem como alterações na microbiota (Mathew et al., 1997). A utilização da lactulose (dissacarídeo sintético) em estudo feito por Kamphues et al., (2007) indicam que há diferenças na resposta de humanos e suínos a este produto, mas que sua inclusão pode ter efeito benéfico sobre a saúde de ambos devido ao aumento do número de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacteria* e redução do número de *Salmonella* e *E. coli*.

Outras fontes de carboidratos fermentáveis também vêm sendo testadas. Em trabalho analisando a interação entre o tipo de cereal e o nível de lactose sobre o desempenho de leitões após a desmama, O'Connell et al., (2005) verificaram que o alto nível de lactose na dieta proporcionou melhor desempenho quando a dieta utilizou trigo como cereal. Entretanto, as dietas que continha a cevada como cereal melhoraram o desempenho dos leitões que receberam rações com baixo teor de lactose. O melhor resultado da dieta a base de cevada com baixo teor de lactose pode ser atribuído ao alto nível de  $\beta$ -glucano, um polissacarídeo não-amiláceo solúvel (PNA) presente na cevada. A queda do desempenho quando a dieta continha cevada e alto nível de lactose pode ter sido efeito da fermentação excessiva ocorrida no intestino grosso. De acordo com Smits et al., (1996), os PNA's atuam aumentando a viscosidade da digesta, aumentando o tempo de permanência do alimento no trato digestivo. Entretanto, quando a fermentação é excessiva, ocorre aumento da produção de ácido graxos voláteis no intestino grosso, o que poderia comprometer a fermentação microbiana (Williams et al., 2001).

A utilização de outro PNA, a inulina, em dietas a base de cereais e proteína vegetal com alto e baixo nível de lactose foi testada por Pierce et al., (2005). A inclusão de inulina na dieta com alto nível de lactose não teve efeito sobre o desempenho dos leitões. Porém, na dieta com baixo nível de lactose, foi observado aumento do ganho de peso diário dos animais e da digestibilidade dos nutrientes quando a dieta continha inulina (Pierce et al., (2005).

Sabendo-se que a desmama implica em perdas em desempenho de leitões, e que os efeitos dessas perdas podem ser atenuados com a alimentação, torna-se interessante a pesquisa por ingredientes que possam enriquecer a dieta, cujos efeitos fisiológicos tenham reflexo no desempenho.

## 2.4. Glutamina e desempenho

O intestino delgado é o local de maior concentração do aminoácido glutamina em estado pós-absorção e a principal ação da glutamina dietética ocorre na mucosa intestinal. Este aminoácido atua como importante combustível para divisão celular, principalmente das células da mucosa intestinal e células do sistema imune, entre outras funções (Wu et al. 1996).

Calder & Newsholme, (2002) relatam que a glutamina exerce papel importante em diferentes órgãos, ora doando esqueletos de carbono, ora doando o grupo amina, tais como: síntese de glicose, aminoácidos, uréia e glutatona (antioxidante presente na célula) no fígado; síntese de glicose, fonte de energia e balanço ácido-base nos rins; fonte de energia para as células do intestino delgado e para as células do sistema imune; e síntese de proteína, purina e pirimidina em todos os tecidos. Ziegler et al., (2003) focaram o estudo no metabolismo da glutamina na mucosa intestinal dos animais, e descrevem que sua atividade no intestino está relacionada ao seu uso como substrato energético, estímulo da síntese proteica, proliferação celular e inibição da apoptose, aumento do número e função das células do sistema imunológico associadas à mucosa, diminuição da translocação de bactérias, diminuição da resposta inflamatória desencadeada pelas citocinas, regulação da produção de glutatona na mucosa, regulação das proteínas de choque térmico, entre outros fatores.

Em ambientes de desafio sanitário, comumente encontrado em granjas comerciais, a manutenção do consumo e do ganho de peso de leitões após a desmama pode estar comprometido. Nessas condições, ocorre intensa multiplicação de macrófagos e linfócitos, e a glutamina tem se mostrado um importante substrato energético para estas células (Abreu & Donzele, 2008; Andrews & Griffiths, 2002; Calder, 1995).

Em condições de estresse catabólico, como a desmama ou infecções, a concentração de glutamina plasmática e muscular caem, e ocorre aumento do fornecimento de glutamina do músculo para outras regiões do corpo (Calder & Newsholme, 2002). O suprimento nutricional de glutamina pode estar limitado pela desmama ou por algum estresse intestinal devido ao rápido *turnover* e substituição das células da mucosa (Bequette, 2003). O fato do aumento da demanda de glutamina durante uma situação de estresse imunológico, tanto pelos enterócitos da mucosa

intestinal quanto pelas células do sistema imune, pode determinar a condição de essencialidade deste aminoácido.

Diversas pesquisas têm demonstrado o efeito benéfico da inclusão de glutamina sobre o desempenho de suínos (Yi et al., 2005; Kitt et al., 2003; Gómez, 2005) e também de aves (Bartel & Batal, 2007 e Maiorka et al., 2000). Apesar de ser considerado um aminoácido não essencial, em situações de estresse a demanda por glutamina pode superar a sua capacidade de síntese, tornando a sua suplementação relevante (Lopes, 2005b).

A afirmação de que em condições de estresse imunológico a suplementação com glutamina torna-se importante foi constatada por Yi et al., (2005), quando avaliou o efeito da glutamina e do plasma sanguíneo em leitões desmamados e em condições de desafio. A inclusão de glutamina nas rações sem plasma atenuou a depressão do crescimento e a atrofia das vilosidades da mucosa intestinal de leitões desafiados com *E.coli* K88<sup>+</sup>, proporcionando desempenho semelhante ao dos animais que receberam plasma sanguíneo nas rações sem suplementação de glutamina (Yi et al., 2005).

De forma semelhante, Kitt et al., (2003) avaliaram o efeito da inclusão de 5% de glutamina nas rações sobre o desempenho de leitões desmamados desafiados com BW<sup>-1</sup> lipopolissacarídeo (endotoxina sintetizada da partir da *E. coli*) ou com solução salina injetadas, constataram que a resposta à inclusão de glutamina nas rações foi maior quando os animais estavam desafiados com a endotoxina. A inclusão de outros aa's não-essenciais na ração (isenta de glutamina) também foi testada neste experimento, e a baixa resposta dos animais em desempenho quando comparados aos animais que receberam suplementação com glutamina após o desafio comprova que a reação imune deveu-se à presença de glutamina na ração (Kitt et al., 2003).

Gómez et al., (1994), trabalhando com leitões neonatos alimentados com dieta líquida (20% de matéria seca e contendo produtos lácteos) também encontraram efeito positivo da inclusão de glutamina sobre o ganho de peso diário animais desafiados com *Rotavirus enteritis*.

Os trabalhos de Kitt et al., (2003) e Gómez et al., (1994) sugerem que a inclusão de glutamina na dieta teria efeito apenas em situação de desafio sanitário, e que em condições normais a síntese de glutamina a partir de outros aminoácidos seria capaz de prover a necessidade do animal., Entretanto, Bartell & Batal, (2007) concluem que a suplementação com 1% de glutamina nas dietas de frangos de corte não desafiados promove, além de melhora do desempenho e da altura das vilosidades, melhora na

capacidade de defesa dos animais pelo aumento da produção de IgG. Esta melhora indica, em oposição aos resultados encontrados Gómez et al., (1994) e Kitt et al., (2003) que a suplementação com glutamina pode ser benéfico mesmo em animais não desafiados Bartell & Batal, (2007).

Wu et al., (1996) relatam que a inclusão de glutamina nas rações reduziu a atrofia das vilosidades no jejuno de leitões na primeira semana pós-desmama e melhorou o desempenho na segunda semana.

Pluske (1997), em pertinente revisão sobre o assunto e ressaltando os fatores que influenciam a estrutura e a função do intestino delgado em suínos desmamados, aponta para a necessidade de se elucidar os mecanismos que controlam a capacidade de defesa do animal nesta fase. O autor sugere que o uso de aminoácidos não-essenciais como a glutamina podem ter efeitos sobre a digestão, absorção e capacidade imunológica do TGI quando este se encontra comprometido. A necessidade de se obter ingredientes para as rações que possam manter o crescimento dos leitões no período que sucede a desmama e abrandar suas inevitáveis conseqüências, somada à tendência mundial de redução do uso de antibióticos nas rações conduzem para a hipótese de que suplementação de rações com Glutamina no período que sucede á desmama dos leitões, de forma isolada ou associada a outros ingredientes como plasma sanguíneo e lactose pode ter efeito positivo sobre o consumo de ração e o ganho de peso dos animais.

### 3. LITERATURA CONSULTADA

- ABREU, M.L.T.; DONZELE, J.L. Glutamina na nutrição de leitões. **Anais do V Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos – CBNA**. Cascavel, PR, 2008, p. 75-80.
- ANDREWS, F.J.; GRIFFITHS, R.D. Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill. **British Journal of Nutrition**. 87, supl. 1, 53-58, 2002.
- BACH KNUDSEN, K.E.; JØRGENSEN, H. Intestinal degradation of dietary carbohydrates – from birth to maturity. In: LINDBERG, J.E.; OGLE, B. **Digestive Physiology of Pigs: Proceedings of the 8th Symposium**. Cabi Publishing, 2001, p.109-120.
- BARTELL, S.M. & BATAL, A.B. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and immune response of broilers. **Poultry Science**, 86:1940-1947, 2007.
- BEQUETTE, B.J. Amino acid metabolism in animals: an overview. In: D’MELLO, J.P.F. **Amino Acids in Animal Nutrition**, 2ª ed. p. 87-102, 2003.
- BERTOL, T.M.; SANTOS FILHO, J.I.; LUDKE, J.V. Níveis de Suplementação com Lactose na Dieta de Leitões Desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 29(5):1387-1393, 2000.
- BIRD, P.H., ATWOOD, C.S. HARTMANN, P.E. The responses of blood galactose to oral doses of lactose, galactose plus glucose and milk to piglets. **British Journal of Nutrition**, 73, 753–761, 1995.
- BOEHM, G.; STAHL, B. Oligosaccharides from milk. **Journal of Nutrition**, 137: 847S-849S, 2007.
- CALDER, P.C. Fuel utilization by cells of the immune system. **Proceedings of the Nutrition Society**, 54:65-82, 1995.
- CALDER, P.C.; & NEWSHOLME, P. Glutamine and the Immune System, In: P.C. CALDER C.J. FIELD; H.S. GILL. **Nutrition and Immune Function**. 2002, p.109-133.

- CERA, K.R.; MAHAN, D.C.; REINHART, G.A. Effects of dietary dried whey and corn oil on weanling pig performance, fat digestibility and nitrogen utilization. **Journal of Animal Science**, 66:1438-1445, 1988.
- DUNSFORD, B.R.; KNABE, D.A.; HAENSLY, W.E. Effect of dietary soybean meal on the microscopic anatomy of the small in the early weaned pig. **Journal of Animal Science**, 67: 1855-1863, 1989.
- EKSTROM, K.E.; BENEVENGA, N.J.; GRUMMER, R.H. Changes in the intestinal lactase activity in the small intestine of two breeds of swine from birth to 6 weeks of age. **Journal of Nutrition**. 105: 1032-1038, 1975.
- ETHERIDGE, R. D., SEERLEY, R. W., WYATT, R. D. The Effect of Diet on performance, Digestibility, Blood Composition and Intestinal Microflora of Weaned Pigs. **Journal of Animal Science**, 58: 1396-1402, 1984.
- FRAPPIER, B.L. Digestive System in: EURELL, J.A.; FRAPPIER, B.L. **Textbook of Veterinary Histology**. Blackwell Publishing, 6<sup>a</sup> edition, 2006, p. 170 – 211.
- GAHAN, D.A.; LYNCH, M.B.; CALLAN, J.J. et al. Performance of weanling piglets offered low-, medium- or high-lactose diets supplemented with a seaweed extract from *Laminaria* spp. **Animal Journal** , 3:1, PP 24-31, 2008.
- GERSHWIN, L.J. Respostas imunes a agentes infecciosos. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**, Ed. Guanabara/Koogan, 2003, p. 7-13.
- GÓMEZ, G.G. Glutamine supplemented for unstressed and stressed (Rotavirus enteritis) neonatal piglets. Disponível em [http://cals.ncsu.edu/an\\_sci/ann\\_rep94/gggom93.html](http://cals.ncsu.edu/an_sci/ann_rep94/gggom93.html), acessado em 28/04/2008.
- HANCOCK, J.D.; PEO Jr, E.R.; LEWIS, A.J. et al.. Effects of ethanol extraction and heat treatment of soybean flakes on function and morphology of pig intestine. **Journal of Animal Science**, 68: 3244-3251, 1990.
- HERDT, T. Fisiologia Gastrointestinal e Metabolismo caps 26 - 31 in CUNNINGHAM, J. P. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2<sup>a</sup> ed. Editora Guanabara – RJ, 1999, p. 213 – 305..
- HIRSH, D.C. O canal alimentar como habitat microbiano. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**, Ed. Guanabara/Koogan, 2003, p. 55-59.
- KAMPHUES, J.; TABELING, R.; STUKE, O. et al. Investigations on potential dietetic of lactulose in pigs. **Livestock Science**, 109:93-95, 2007.
- KELY, D.; KING, T.P. Digestive Physiology and development in pig. In: VARLEY, M.A.; WISEMAN, J. **The Weaner Pig: Nutrition and Management**. Cabi Publishing, 2001, p. 179-206.
- KIM, K.I.; BENEVENGA, N.J.; GRUMMER, R.H. Lactase activity and VFA production in the cecum and colon of pigs fed a corn-soy or 40% whey diet. **Journal of Animal Science**, Vol. 46, No. 6, 1978.
- KITT, S.J.; MILLER, P.S.; FISCHER, R.L. Effects of glutamine on growth performance and intestinal development of immune challenged weaning pigs fed chemically defined diets. **Nebraska Swine Report**, p. 34-38, 2003.
- KLOBASA, F.; WERHAHN, E. BUTLER, J.E. Composition of sow Milk during lactation. **Journal of Animal Science**, 64:1458-1466, 1987.

- KRAUSE, D.O.; EASTER, R.A.; WHITE, B.A. et al. Effect of weaning diet on the ecology of adherent lactobacilli in the gastrointestinal tract of the pig. **Journal of Animal Science**, 73:2347:2354, 1995.
- KUNNINGHAM-RUNDLES, S. Evaluation of the Effects of Nutrients on Immune Function. In: CALDER, P.C.; FIELD, J.F.; GILL, H.S. **Nutrition and Immune Function** Cab International, 2002, p. 21-41.
- LEICHTER, J. Effect of dietary lactose on intestinal activity in young rats. **Journal of Nutrition**, v.103, p. 392-396, 1973.
- LEPINE, A.J.; MAHAN, D.C.; CHUNG, Y.K. Growth performance of weaning pigs fed corn-soy bean meal with or without dried whey at various L-lysine.HCl levels. **Journal of Animal Science**, 69: 2026-2032, 1991.
- LI, D.F.; NELSEN, J.L.; REDDY, P.G.; BLECHA, F. et al. Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, 68: 1790-1799, 1990.
- LOPES, E. L., JUNQUEIRA, O. M., ARAUJO, L. F. Fontes de lactose, níveis de lisina dietéticos e peso dos leitões ao desmame. **Revista Brasileira de Zootecnia**, nov./dez., vol.34, no.6, supl, p.2340-2347. ISSN 1516-3598, 2005.
- LOPES, P.F. Efeitos da glutamina sobre a parede intestinal e sua aplicabilidade potencial em coloproctologia. **Revista brasileira de Coloproctologia**, 25(1):75-78. 2005.
- LUCCHESI, L.; TOLEDO, A.L.de; CARDOSO, T.A. Ingredientes substitutos para a lactose para leitões. **Anais do V Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos – CBNA**. Cascavel, PR, 2008, p. 143-148.
- MACHADO G.S.; FONTES, D.O. Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune em suínos. In: ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. **II Simpósio Internacional sobre exigências Nutricionais de aves e Suínos**. Viçosa-MG, 2005, p. 293-314.
- MAHAN, D.C. Efficacy of dried whey and its lactalbumin and lactose components at two dietary lysine levels on postweaning pig performance and nitrogen balance. **Journal of Animal Science**, 70:2182-2187, 1992.
- MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52 n.5, 2000.
- MATHEW, A.G.; ROBBINS, C.M.; CHATTIN, S.E. et al. Influence of galactose lactose on energy and protein digestibility, enteric microflora, and performance of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, 75:1009-1016, 1997
- MORAES, N.; SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I. et al. Manejo do leitão desde o nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S. da; SESTI, L. **Suinocultura Intensiva: Produção, Manejo e Saúde do Rebanho**. Embrapa, 1998, p.135-161.
- O'CONNELL, J.M.; CALLAN, J.J.; O'DOHERTY, J.V. The interaction between cereal type and lactose level on piglet performance and diet digestibility post weaning. **British Society of Animal Science**. 81:265-269, 2005.

- PIERCE, K.M.; CALLAN, J.J.; MCCARTHY, P. et al. Performance of weanling pigs offered low or high lactose diets supplemented with avilamycin or inulin. **British Society of Animal Science**. 80:313-318, 2005.
- PIERCE, K.M.; CALLAN, J.J.; MCCARTHY, P. et al. The interaction between lactose level and crude protein concentration on piglet post-weaning performance, nitrogen catabolism and faecal volatile fatty acid concentrations. **Animal Feed Science and Technology**, 132:267-282, 2006.
- PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, 51:215-256, 1997.
- PLUSKE, J.R.; THOMPSON, M.J.; ATWOOD, C.S. et al. Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cow's whole milk after weaning. **British Journal of Nutrition**, v.76, p.409-422, 1996.
- POLLMANN, D.S.; DANIELSON, D.M.; PEO JR., E.R. Effect of *Lactobacillus* spp. acidophilus on starter pigs fed a diet supplemented with lactose. **Journal of Animal Science**, Vol 51, No. 3, 1980.
- SEWELL R.F.; WEST, J.P. Some effects of lactose on protein utilization in the baby pig. **College Experiment Station Journal Paper** No 390, 1968.
- SMITS, C.H.M.; ANNISON, G. Non-starch polysaccharides in broiler nutrition – towards a physiologically valid approach to their determination. **Worlds Poultry Science Journal**, vol. 52:204-221, 1996.
- SPREUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; GASKINS, H. R. et al. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. **Journal of Nutrition**, 131: 1520–1527, 2001.
- THOMLINSON, J.R.; LAWRENCE, T.L.J. Dietary manipulation of gastric pH in the prophylaxis of enteric disease in weaned pigs: some field observations. **The Veterinary Record**, 109:120-122, 1981.
- VAN HEES, H.; VENDE-SPREUWENBERG, M.; VAN GILS, B. Managing feed intake of weaned piglets: interactions between nutrition, ethology and farm management. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J. **Recent Advances in Animal Nutrition**, Nottingham University Press, p. 9 – 40, 2004.
- VENDE-SPREUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; VERSTEGEN, M.W.A. et al. Villus height and gut development in weaned piglets receiving diets containing either glucose, lactose and starch. **British journal of Nutrition**. 90:907-913, 2003.
- WHITTEMORE, C.T.; GREEN, D.M. Growth of the Young pig. In: VARLEY, M.A.; WISEMAN, J. **The Weaner Pig: Nutrition and Management**. Cabi Publishing, 2001, p. 1-16.
- WILLIAMS, B.A.; VERSTEGEN, M.W.A.; TAMMINGA, S. Fermentation in the large intestine and its relationship to animal health. **Nutrition Research Review**, 14:207-227, 2001.
- WU, G.; MEIER, S.A.; KNABE, D.A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v.126:2578-2584, 1996.

- YI, G. F.; CARROLL, J. A.; ALLEE, G. L. et al.. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of Escherichia coli K88+-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, 83:634-643, 2005.
- ZIEGLER, T.Z., EVANS, M.E., FERNANDEZ-ESTÍVARIZ, C. et al. Trophic and cytoprotective nutrition for intestinal adaptation, mucosal repair, and barrier function. **Annual Review of Nutrition**. 23:229-261, 2003.

## Capítulo 1

### Níveis de lactose em rações leitões desmamados aos 21 dias de idade.

**Resumo:** Objetivando-se avaliar diferentes níveis de lactose a serem usados em rações para leitões desmamados aos 21 dias de idade, 72 leitões com peso inicial médio de 6,12 kg foram usados em um experimento com delineamento em blocos ao acaso com 4 tratamentos (0, 4, 8 e 12% de lactose) seis repetições e três animais por unidade experimental. As rações experimentais foram fornecidas aos animais dos 21 aos 35 dias de idade. Dos 36 aos 49 dias, os animais receberam uma ração basal isenta de lactose. Os níveis de lactose não influenciaram ( $P < 0,05$ ) significativamente o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar dos leitões dos 21 aos 35 dias de idade. O efeito ( $P < 0,05$ ) residual da lactose, analisado aos 49 dias de idade, também não foi observado nos parâmetros de desempenho dos leitões. Os tratamentos também não influenciaram ( $P < 0,05$ ) a altura das vilosidades, a profundidade das criptas e a relação vilo:cripta da mucosa do intestino delgado dos animais. A composição da microbiota intestinal foi afetada pelos tratamentos. Verificou-se que a presença de lactose na dieta proporcionou maior diversidade e equilíbrio da comunidade microbiana intestinal. Observou-se ainda um aumento da quantidade de *Lactobalillus* spp. em relação ao total de microorganismos intestinais quando se aumentou a porcentagem de lactose das rações até o nível de 8%, indicando melhora da saúde intestinal. Foi constatada melhora da saúde intestinal dos animais, embora não suficiente para melhorar o desempenho. Conclui-se que o nível de lactose a ser usado em rações para leitões desmamados aos 21 dias é de 8%.

**Palavras-chave:** desmama precoce, microbiota, morfologia de mucosa, vilosidades

## **Lactose levels in diets for piglets weaned with 21 days of age**

**Abstract:** Seventy-two weaned piglets, 21 days old, average weight of 6.12 kg were used in randomized complete block designs. An experiment with 4 treatments (0, 4, 8 and 12% lactose) in six replicates, with three animals per experimental unit was carried out to evaluate different lactose levels in pig diet. The animals received experimental diets between 21 and 35 days of age. A basal lactose-free diet was fed from days 36 to 49. Lactose levels had no significant influence ( $P < 0.05$ ) on weight gain, feed intake and feed conversion of pigs (21 to 35 days of age). The residual lactose effect ( $P < 0.05$ ) analyzed at 49 days of age was not observed on the performance parameters. The treatments had no influence ( $P < 0.05$ ) on villus height, crypt depth and villous/crypt relation. The intestinal microbiota composition was affected by the treatments. Lactose in the diet promoted greater diversity and balance of the intestinal microbial community. The number of *Lactobalillus* spp. increased in relation to the total number of intestinal microorganisms when the lactose percentage in the diets was increased up to 8%, indicating improved intestinal health. The intestinal animal health showed improvements, but animal performance was not enhanced. Diets fed to piglets weaned at 21 days of age should contain lactose levels of 8%.

**Keywords:** early weaning, microbiota, mucosal morphology, villus

## Introdução

Durante a fase de aleitamento, o leitão utiliza os carboidratos do leite como fonte de energia, principalmente a lactose. Os maiores problemas relacionados à desmama têm sido relacionados com a queda no consumo de alimento. Quando o consumo é satisfatório, há aumento global na secreção de hormônios gastro-intestinais, resultando em maior proliferação celular nas criptas do epitélio intestinal, acompanhado por um aumento no comprimento das vilosidades (Herdt, 1999).

A abrupta mudança da ração associada com os processos da desmama implicam na eficiência com que os leitões desmamados digerem e absorvem o alimento que consomem, refletindo na altura das vilosidades e na profundidade das criptas da mucosa do intestino delgado (Pluske et al, 1996). A menor capacidade de utilização dos nutrientes da ração pelos animais cujas vilosidades estão diminuídas pode ser devido à menor superfície da mucosa em contato com os alimentos.

No processo de desmame aos 21 dias de idade ocorre uma mudança abrupta na alimentação dos leitões, que param de receber o leite materno e passam a receber ração seca a base de milho e soja. Quando a composição da dieta é alterada, pode ocorrer também alterações na composição da microbiota intestinal, sendo a atividade microbiana diretamente dependente do substrato fornecido (Williams et al., 2001).

A composição da microbiota intestinal de leitões pode ser analisada por sua diversidade e riqueza. O índice de diversidade refere-se à variedade de espécies de microorganismos encontrados em um determinado local, sendo composto pela uniformidade e riqueza de espécies. A riqueza, por sua vez, refere-se à abundância numérica de grupos de espécies, sendo representada por Unidades Taxonômicas Operacionais (UTO's) (Odum, 1993).

Vários alimentos têm sido avaliados visando-se a melhoria do desempenho dos animais nas primeiras semanas pós desmame, sendo a lactose já amplamente utilizada. Porém, os efeitos da inclusão de níveis de lactose na dieta em especial em relação à composição da microbiota intestinal não tem sido estudado, e o nível de lactose utilizado tem variado de 0,0 a 30% (Bertol et al., 2000; Mahan et al., 1992; Pierce et al., 2005 e Cromwel et al., 2008).

Assim, verifica-se a necessidade de determinação do nível adequado de lactose a ser utilizados em rações para leitões desmamados aos 21 dias de idade em função do desempenho da morfometria da mucosa do intestino delgado e da composição da microbiota do intestino grosso dos animais.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Foram utilizados 72 leitões (híbridos comerciais) desmamados aos  $21 \pm 1$  dias de idade e peso de  $6,10 \pm 0,60$  kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e seis repetições, e três animais por unidade experimental. O peso à desmama e o parentesco dos animais foram considerados como critérios na formação dos blocos. Os tratamentos corresponderam a rações com níveis de 0, 4, 8 e 12% de lactose, dos 21 aos 35 dias. Dos 36 aos 49 dias, todos os animais receberam uma mesma ração sem lactose.

As rações experimentais dos 21 aos 35 dias e dos 36 aos 49 dias, isoenergéticas, isolisínicas, isocálcicas e isofosfóricas foram formuladas para atender ou exceder as exigências de suínos na fase pré-inicial e inicial (7 a 15 kg), segundo consta em (Rostagno et al., 2005), e as suas composições centesimais e calculadas encontram-se apresentadas nas tabelas 1 e 2.

Os animais foram alojados em gaiolas suspensas, com pisos ripados, comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta, em galpão de alvenaria, com piso de concreto, forro de madeira e telhas tipo francesa.

Os animais foram mantidos em ambiente controlado. A temperatura da sala foi registrada durante todo o período experimental, diariamente, três vezes ao dia (8, 12 e 17 horas) por meio de termômetro de bulbo seco e bulbo úmido e termômetro de globo negro. As temperaturas máxima e mínima foram registradas diariamente às 8 horas., Os dados de temperatura, bulbo seco e bulbo úmido e globo

Tabela 1 – Composições centesimais e calculadas das rações experimentais fornecida aos leitões dos 21 aos 35 dias em função dos níveis de lactose.

Ingredientes	Níveis de Lactose (%)			
	0	4	8	12
Milho	53,089	50,977	46,168	41,294
Soja int. extrusada	23,500	18,000	19,000	20,000
Farelo de soja 45%	17,000	17,000	17,000	17,000
Lactose cristalina	-	-	4,080	8,161
Leite em pó	-	7,700	7,700	7,700
Plasma Sangüíneo	2,000	2,000	2,000	2,000
Óleo de soja	0,000	0,450	0,190	0,000
Fosfato bicálcio	1,970	1,760	1,760	1,760
Calcário	0,640	0,576	0,573	0,570
Sal	0,410	0,336	0,336	0,338
Suplemento vitamínico <sup>1</sup>	0,400	0,400	0,400	0,400
Suplemento mineral <sup>2</sup>	0,240	0,240	0,240	0,240
Promotor de crescimento <sup>3</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
Antioxidante <sup>4</sup>	0,000	0,010	0,010	0,000
L – lisina HCl	0,395	0,272	0,258	0,246
DL – Metionina	0,164	0,133	0,140	0,147
L – Treonina	0,080	0,080	0,080	0,080
L – Triptofano	0,025	0,016	0,015	0,014
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
<b>Composição nutricional calculada</b>				
En. Met. (kcal /kg)	3400	3400	3400	3400
Proteína Bruta (%)	22,780	22,960	23,930	22,890
Lactose (%)	0,000	4,000	8,000	12,000
Lisina digestível (%)	1,400	1,400	1,400	1,400
Met + cist dig. (%)	0,784	0,784	0,784	0,784
Treonina dig. (%)	0,882	0,882	0,882	0,882
Triptofano dig. (%)	0,266	0,266	0,266	0,266
Cálcio (%)	0,850	0,850	0,850	0,850
Fósforo total (%)	0,669	0,669	0,669	0,669
Fósforo disp. (%)	0,500	0,500	0,500	0,500

<sup>1</sup> Contendo por kg de ração: vit. A - 12.000 UI; vit. D3 - 2.250 UI; vit. E - 27 mg; vit. K - 3 mg; tiamina - 2,25 mg; riboflavina - 6 mg; piridoxina - 2,25 mg; vit. B12 - 27 mcg; ácido fólico - 400 mcg; biotina - 150 mcg; ácido pantotênico - 22,5 mg; niacina - 45 mg; Se - 300 mcg.

<sup>2</sup> Contendo por Kg de ração: 112g Cálcio (mín.), 27,0g Fósforo (mín.), 58,5g Sódio, 1.820 mg Ferro, 2.049mg zinco, 2.126mg cobre, 836mg Manganês, 29,5mg Iodo, 485mg Flúor (máx.), 8mg Selênio, 3,6mg Cobalto,.

<sup>3</sup> Tilosina

<sup>4</sup> BHT

Tabela 2 – Composição centesimal e calculada da ração experimental fornecida aos leitões dos 36 aos 49 dias de idade.

Ingredientes	Quantidade
Milho	57,786
Soja int. extrusada	18,000
Farelo de soja 45%	17,000
Plasma Sangüíneo	2,000
Óleo de soja	0,950
Fosfato bicálcio	1,990
Calcário	0,660
Sal	0,300
Suplemento vitamínico <sup>1</sup>	0,400
Suplemento mineral <sup>2</sup>	0,240
Promotor de crescimento <sup>3</sup>	0,050
Antioxidante <sup>4</sup>	0,010
L – lisina HCl	0,326
DL – Metionina	0,166
L – Treonina	0,103
L – Triptofano	0,019
Total	100,000
<b>Composição nutricional calculada</b>	
Energia Met. (Kcal /kg)	3400
Proteína Bruta (%)	21,340
Lisina digestível (%)	1,250
Met + cist digestível (%)	0,750
Treonina digestível (%)	0,810
Triptofano digestível (%)	0,240
Cálcio (%)	0,850
Fósforo total (%)	0,690
Fósforo disponível (%)	0,500

<sup>1</sup> Contendo por kg de ração: vit. A - 12.000 UI; vit. D3 - 2.250 UI; vit. E - 27 mg; vit. K - 3 mg; tiamina - 2,25 mg; riboflavina - 6 mg; piridoxina - 2,25 mg; vit. B12 - 27 mcg; ácido fólico - 400 mcg; biotina - 150 mcg; ácido pantotênico - 22,5 mg; niacina - 45 mg; Se - 300 mcg.

<sup>2</sup> Contendo por Kg de ração: 112g Cálcio (mín.), 27,0g Fósforo (mín.), 58,5g Sódio, 1.820 mg Ferro, 2.049mg zinco, 2.126mg cobre, 836mg Manganês, 29,5mg Iodo, 485mg Flúor (máx.), 8mg Selênio, 3,6mg Cobalto,.

<sup>3</sup> Tilosina

<sup>4</sup> BHT

negro foram posteriormente convertidos no Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), conforme proposto por Buffington et al., (1981).

Para avaliação do desempenho, os animais foram pesados no início, aos 35 dias e ao final do experimento (49 dias), e as sobras de ração foram coletadas diariamente e pesadas quando os animais atingiram 35 e 49 dias, ao final de cada período, determinando-se posteriormente o consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar.

Aos 49 dias de idade, um animal de cada unidade experimental, com peso mais próximo do peso médio da baia, foi abatido para coleta de amostras de material histológico e amostras da digesta do intestino grosso.

Foram coletadas porções de 2 cm de comprimento foram retiradas nas regiões correspondentes a 4, 50 e 96% do intestino delgado, que correspondem, respectivamente, à região do duodeno, jejuno e íleo. As porções coletadas foram enviadas ao Laboratório de Histologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa para cortes histológicos e montagem de lâminas. Os cortes histológicos foram lavados em solução fisiológica, fixado em BOUIN por 24 horas, desidratados em álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Em cada lâmina foram colocadas duas secções com 5µm de espessura. As lâminas foram colocadas novamente em solução de xilol para retirar o excesso de parafina e novamente hidratadas. Os corantes utilizados foram a hematoxilina e a eosina. Depois de coradas, as lâminas foram novamente desidratadas. Para as leituras morfométricas, foi utilizado o microscópio óptico OLYMPUS BX50 com ampliação de 10x acoplado ao analisador de imagem "Image-Pro Plus 1.3.2" (1994). Foram selecionadas e medidas as alturas de 30 vilosidades e suas respectivas 30 criptas, bem orientadas e seccionadas longitudinalmente. A relação vilo:cripta também foi computada.

No dia do abate, amostras do conteúdo intestinal dos animais na região do cólon proximal foram coletadas em recipientes esterilizados e imediatamente congeladas. As amostras foram posteriormente enviadas ao Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa. Foi realizada a extração de DNA total da digesta utilizando-se protocolo de Lu et al., (2003), com modificações feitas no Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa. Para amplificar a região do gene rDNA 16S, correspondente a *Eubactéria* total, foram utilizados os iniciadores universais de *Eubactérias*, cujas seqüências nucleotídicas são: “primer” 2 (Unibac): 5’ATTACCGCGGCTGCTGG3’ e “primer” 3 (GC-Clamp): 5’CGCCCGCCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCA G3’ (Muyzer et al., 1993). Para amplificar a região do gene rDNA 16S que corresponde ao gênero *Lactobacillus* spp. utilizou-se os iniciadores específicos para *Lactobacillus* spp., cujas seqüências são:CGCCCGCCGCGCCCGCGCCCGTCCCGCCG CCCCCG CCCCTTTAYGCGAACAYYTRGGKGT e CCAAACATCACVCCRACTT. O perfil genético da microbiota intestinal de suínos foi avaliado pela técnica de Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante – DGGE (MUYZER et al., 1993). Os dados obtidos com o auxílio do programa Bionumerics, versão 5.10, foram usados para calcular o Índice de Diversidade Shannon-Weaver (H), Equitabilidade (E’), Riqueza (R) e a Similaridade entre os tratamentos.

A variável R foi obtida com base em uma matriz binária, na qual a ausência da banda de DNA correspondente a cada UTO era codificada como zero (0) e a presença como um (1). Para cada nível de lactose, obteve-se a freqüência de ocorrência de cada UTO pela contagem do número de presenças entre os tratamentos avaliados. O índice H’ foi calculado com base na abundância, expressa como densidade ótica da banda na raia do gel, pela seguinte fórmula:

$$H' = \frac{2,3}{N} \left( N \log N - \sum ni \log ni \right), \text{ em que:}$$

**N** = densidade óptica da raia, obtida pelo somatório das densidades óticas das bandas da raia;

**ni** = densidade óptica de cada banda, na raia.

Para o cálculo de E, empregou-se a seguinte fórmula:

$$E = \frac{H'}{\log R}$$

Os dados de desempenho e morfometria de mucosa intestinal foram submetidos à análise de variância e teste F, utilizando-se o programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido na Universidade Federal de Vicosa - MG (UFV,1997).

## Resultados e Discussões

A temperatura no interior da sala de creche durante o período experimental manteve-se entre  $26,3 \pm 1,49$  °C (mínima) e  $30,0 \pm 1,12$  °C (máxima). A temperatura de bulbo seco média registrada foi de  $26,1 \pm 2,6$ ;  $27,6 \pm 1,2$  e  $27,4 \pm 2,8$ , respectivamente para os horários de 8, 12 e 17 horas. A umidade relativa média, nestes horários foi de  $68 \pm 8,1$ ;  $61 \pm 10,5$  e  $61 \pm 9,3\%$ , respectivamente. O índice de temperatura, de globo negro e umidade (ITGU) realizadas às 8, 12 e 17 horas foram de  $77,7 \pm 1,6$ ;  $78,3 \pm 1,3$  e  $78,4 \pm 1,6$ , respectivamente para estes horários. Pelos valores de ITGU obtidos neste estudo e considerando que segundo os relatos de Campos et al., (2008), índices de ITGU até 80 representam ambientes de conforto térmico para leitões nesta fase, pode-se inferir que a temperatura ambiente não foi um fator que interferiu nos resultados.

O peso inicial (Pi), o peso aos 35 dias (P35), o peso aos 49 dias (P49) dos animais e os resultados de ganho de peso diário (GPD), consumo de ração diário (CRD) e conversão alimentar (CA) dos leitões consumindo rações com diferentes níveis de lactose na dieta estão apresentados na Tabela 3.

Não se observou diferença ( $P > 0,05$ ) no desempenho dos leitões em nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados no período de 21 a 35 dias de idade.

Apesar de não ter ocorrido variação significativa, observou-se, em valores absolutos, que os animais alimentados com dieta isenta de lactose apresentaram os menores valores absolutos de GPD e CRD, que foram, respectivamente, 21,0 e 19,2% inferiores à média dos demais tratamentos. Verificou-se também que os leitões que receberam o tratamento com 12% de lactose obtiveram os melhor valor absoluto de CA e os maiores valores absolutos de GPD e P35.

Tabela 3 - Desempenho de leitões alimentados com diferentes níveis de lactose na dieta dos 21 aos 35 dias de idade.

	Níveis de Lactose				CV %
	0	4	8	12	
21 - 35 dias					
Pi	6,11	6,09	6,07	6,16	1,04
P35	8,84	9,50	9,14	9,63	5,87
GPD	195	244	220	248	17,22
CRD	250	308	280	306	13,34
CA	1,29	1,28	1,28	1,25	9,45
21 - 49 dias					
	Nível de Lactose				CV %
	0-0	4-0	8-0	12-0	
Pi	6,11	6,09	6,11	6,16	1,04
P49	15,96	16,12	14,86	16,11	11,34
GPD	352	358	312	356	17,55
CRD	481	412	450	493	15,20
CA	1,36	1,43	1,45	1,4	6,25

\*Não significativo ( $P < 0,05$ ).

Os resultados evidenciaram que, embora não tenha sido verificado efeito significativo dos tratamentos sobre o desempenho dos leitões até os 35 dias, os animais que receberam ração com 0% de lactose apresentaram os piores resultados, sendo inclusive o único grupo de animais que apresentaram GPD inferior a 200g/dia.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Pollmann et al., (1980), que, trabalhando com leitões de peso médio à desmama de 6,0 Kg, também não verificaram efeito significativo da inclusão de 10% de lactose nas rações suplementadas ou não com probióticos e inoculadas ou não com *Lactobacillus spp. acidophilus* sobre o GPD e a CA dos animais, avaliados semanalmente até os 28 dias após a desmama. Embora no trabalho de Poolmann et al., (1980) a inclusão de lactose não tenha proporcionado melhora ( $P > 0,05$ ) no desempenho, os animais alimentados com ração contendo 10% de lactose apresentaram, em valores absolutos, um aumento de 4,6% no GPD quando comparados aos demais tratamentos.

Pierce et al., (2005), que estudou o efeito da interação entre níveis de lactose (6,5; 17,0 e 27,5%) e inclusão de ácido láctico (0,0; 1,6%) na dieta de leitões desmamados aos 24 dias de idade com peso médio de 7,1 Kg, avaliados semanalmente até os 28 dias após a desmama, também não observaram efeito da interação entre as duas variáveis estudadas. Contudo, foi ressaltado um aumento quadrático ( $P>0,05$ ) quando se aumentou o nível de lactose sobre o GPD dos leitões dos 7 aos 14 dias, com melhora até o nível de 17% e efeito linear ( $P>0,05$ ) do aumento dos níveis de lactose sobre o GPD dos animais dos 21 aos 28 dias e no período total do experimento, de 0 a 28 dias.

Respostas significativas da inclusão de lactose na dieta também foram verificadas por Bertol et. al (2000), que, trabalhando com leitões desmamados aos 21 dias e 4 níveis de lactose (0%; 7%; 14% e 21%), constataram um aumento linear ( $P>0,05$ ) no GPD e CRD dos leitões e redução linear na CA nos primeiros 14 dias após a desmama, com aumento linear no GPD no período total do experimento e no peso médio dos animais aos 28 dias de idade. De forma semelhante, Mahan et al., (2004) trabalhando com leitões desmamados aos 19 dias de idade alimentados com rações contendo níveis de lactose variando de 10 a 35% dos 0 – 14 dias e fixado em 17% dos 15 aos 30 dias, verificaram aumento linear no GPD dos leitões de 0 aos 7 e dos 7 aos 14 dias, embora o CRD nas duas primeiras semanas após a desmama não tenha diferido ( $P>0,05$ ) e a CA diminuído linearmente apenas de 0 aos 7 dias, mas não nos períodos subsequentes. O possível efeito acumulativo da variação do nível de lactose na no período de 0 a 14 dias associado à inclusão de 17% de lactose na segunda fase para todos os tratamentos não foi constatado por Mahan et al., (2004), admitindo que não houve efeito residual dos níveis de lactose da primeira para a segunda fase.

A lactose é um dissacarídeo composto por galactose e glicose. É, portanto, um açúcar e sua inclusão em rações para leitões têm sido amplamente adotada, pois

acredita-se conferir melhora da palatabilidade das rações e conseqüentemente aumento do consumo de ração e do ganho de peso dos animais. A recomendação para inclusão de lactose em dietas para leitões de desmamados entre 18 e 24 dias de idade tem variado de 12 a 35%, sendo que Bertol, (1999), recomenda a utilização de 12 a 14% de lactose. O efeito benéfico da lactose tem sido atribuído, além da melhora na palatabilidade das rações, à manutenção da integridade da mucosa do intestino delgado (Pluske et al., 1996) e à melhora da saúde intestinal dos animais (Williams et al., 2001).

A altura das vilosidades (AV), a profundidade das criptas (PC) e a relação vilo:cripta (RVC) do intestino delgado, nas porções correspondentes ao duodeno, jejuno e íleo dos leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lactose estão apresentados na Tabela 4.

Não foi verificado efeito significativo do aumento do nível de lactose sobre nenhum dos parâmetros de morfometria de mucosa avaliados.

Entretanto, em valores absolutos, a redução do nível de lactose (Lac) de 12 para 4% reduziu de 519 para 457 a AV do duodeno, proporcionando uma redução numérica de 13,5%. Além disso, o tratamento com maior nível de lactose (12%) proporcionou o maior valor absoluto de AV no duodeno, 7,6% superior à média dos demais. No íleo a ração com 4% Lac proporcionou maiores valores absolutos de AV, que foi 3% superior aos demais.

Apesar de não ter sido verificado efeito significativo dos tratamentos sobre a PC do intestino delgado dos leitões, em valores absolutos, na porção duodenal o tratamento com maior nível de lactose (12%) apresentou PC 8,4% superior à média dos demais e a redução do nível de lactose de 12 para 4% proporcionou uma redução de 9,3% na PC neste segmento. Na porção correspondente ao jejuno, as rações contendo 12 e 8% de lactose proporcionaram menores valores absolutos de PC, sendo que, entre todos, o que apresentou a menor PC foi o tratamento que continha 8% de lactose na ração, que foi

Tabela 4 – Altura de vilosidades (AV), profundidade de cripta (PC) e relação vilo:cripta (RVC) do intestino delgado de leitões aos 49 dias de idade, nas porções correspondentes ao duodeno, jejuno e íleo.

	Lactose <sup>1</sup>				CV (%)
	0	4	8	12	
<i>Duodeno</i>					
AV	502	457	488	519	10,01
PC	216	213	216	233	15,80
RV:C	2,36	2,23	2,30	2,25	11,94
<i>Jejuno</i>					
AV	467	435	424	444	11,90
PC	204	209	195	202	13,55
RV:C	2,42	2,17	2,37	2,35	10,40
<i>Íleo</i>					
AV	389	402	387	394	6,66
PC	185	171	158	170	13,72
RV:C	2,15	2,36	2,42	2,38	12,56

<sup>1</sup>Não significativo (P<0,05).

5,1% menor que a média dos demais tratamentos. Na região ileal, o maior valor absoluto de PC foi verificado nos animais que receberam ração sem lactose, que foi 11,2% superior á média dos tratamentos que continham 4, 8 ou 12% de lactose, sendo que o menor valor absoluto de PC no íleo foi encontrado no tratamento que continha 8% de lactose, que ficou 11% menor que os demais.

Contudo, os resultados de desempenho e morfometria de mucosa encontrados neste estudo não confirmaram os resultados encontrados por Pierce et al., (2005), Bertol et. al (2000), Mahan et al., (2004), Pluske et al., (1996).

A divergência entre os resultados encontrados pode ter sido devido ao fato de que neste estudo constatou-se ausência de desafio sanitário, que somado ao fato de todas as rações conterem plasma sanguíneo e antibiótico, pode ter contribuído para uma atenuação do estresse da desmama.

Ao estar sob influência de inúmeros fatores, o desempenho de leitões na fase pós desmame pode torna-se uma característica de alta variabilidade, sendo influenciado principalmente pela intensidade do desafio sanitário no qual os animais estão expostos.

Durante o experimento os animais de todos os tratamentos apresentaram, de maneira geral, boa saúde e uma baixa incidência de diarreia, indicando que o desafio sanitário observado na creche onde ocorreu o experimento pode não ter sido suficiente para provocar uma redução acentuada no CRD dos leitões, já que a sala foi desinfetada no início do experimento e no intervalo entre o 3º e o 4º blocos, quando houve um intervalo de cinco dias devido à carência na disponibilidade de animais para o experimento.

O baixo desafio observado pode ter impedido que o desempenho dos animais que receberam ração contendo lactose se destacasse em relação ao desempenho dos animais que não receberam lactose. Mesmo que o aumento do nível de lactose das rações fornecidas aos leitões dos 21 aos 35 dias tenha tido influência, de forma residual e em valores absolutos, sobre morfometria da mucosa intestinal, este efeito não se mostrou suficiente para promover um aumento significativo nos parâmetros de desempenho, ainda que tenha sido observada uma melhora nos valores absolutos de GPD e no CRD.

A afirmação de que o nível de desafio sanitário pode ter influência sobre o desempenho de leitões e, neste caso, contribuído para a não observação de efeito significativo do aumento do nível da lactose na dieta está de acordo com os resultados encontrados por Cromwell et al., (2008), que avaliaram o efeito do nível de lactose (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10%) em rações para leitões na terceira semana após a desmama e seu efeito residual na quarta semana (0% de lactose) após a desmama em três estações de pesquisa distintas. Cromwell et al., (2008) constataram que, independentemente da estação onde o experimento foi conduzido, o aumento do nível de lactose da dieta proporcionou melhora do desempenho, verificando-se aumento linear ( $P > 0,05$ ) do GPD e do CRD. Entretanto, observaram também efeito ( $P > 0,01$ ) da estação sobre o GPD e o CRD dos leitões, demonstrando que o ambiente da creche pode exercer influência sobre desempenho. Os autores afirmam ainda que a maior resposta em desempenho observada

em uma das estações em relação às demais ocorreu devido à melhor condição sanitária desta em relação às outras, o que estimulou maior resposta dos leitões em GPD e CRD. Estes resultados indicam que em ambientes com desafio sanitário diferente, alguns ingredientes de rações podem proporcionar respostas em desempenho também diferentes.

Da mesma forma, Spreeuwenberg et al., (2003) relatam que dietas para leitões desmamados contendo lactose, glicose ou amido como fonte de carboidrato não influenciaram ( $P>0,05$ ) o desempenho e a morfometria da mucosa intestinal de leitões nas primeiras semanas após a desmama, o que foi atribuído à baixa incidência de diarreia do lote, indicando o baixo desafio sanitário.

Além do baixo desafio sanitário observado neste experimento, as rações de todos os tratamentos continham 2% de plasma sanguíneo em pó e 50 ppm do antibiótico Tylan<sup>®</sup> como promotor de crescimento em sua composição. O plasma sanguíneo é composto por cinzas, uma fração fibrosa e uma fração protéica (64 a 92%) de alto valor biológico. Entre as proteínas presentes no plasma sanguíneo em pó, destacam-se as imunoglobulinas ativas, principalmente IgG. A inclusão de plasma em dietas para leitões tem sido também utilizada em rações comerciais, sendo sua ação atribuída à ativação do sistema imune e prevenção contra danos causados por patógenos à parede intestinal dos leitões, conferindo melhora na saúde e mantendo as características digestivas e absorptivas do intestino, podendo promover, finalmente, estímulo à ingestão de alimento (Barbosa, 2005).

O efeito dos antibióticos utilizados em subdosagens em rações como promotores de crescimento é, já há bastante tempo, conhecido e largamente empregada na nutrição de suínos. Trabalhos realizados desde a década de 50 relatam ganhos de até 60% no GPD e 75% no CRD (Luecke et al., 1951). Entretanto, devido à presença de antibióticos como promotores de crescimento em rações para suínos, a funcionalidade de

ingredientes com potencial para melhora da saúde e conseqüentemente do desempenho pode ser reduzida. Além disso, a presença de antibiótico pode ter alterado substancialmente a composição da microbiota intestinal, reduzindo a quantidade de microorganismos verificada em todos os tratamentos. De acordo com Gaskins et al, (2002), a utilização de antibiócos promotores de crescimento em rações para leitões é capaz de inibir o estabelecimento da microbiota normal.

A sanitização das instalações associado à presença de plasma sanguíneo e antibiótico nas rações podem explicar porque não foi encontrado efeito do aumento dos níveis de lactose na dieta sobre o desempenho dos animais. Zhao et al., (2007) afirmam que limpeza e sanitização do ambiente é benéfica para o desempenho de leitões no período pós desmama. Os resultados encontrados por Gattáz et al., (2008), que trabalhou com níveis de inclusão de plasma em dietas para leitões desmamados indicam que a ausência de respostas significativas em resultados de experimentos com ingredientes que visam melhorar o desempenho por meio da melhora da saúde do rebanho estão, provavelmente, relacionados com a ausência de desafio sanitário no ambiente em que foram instalados os animais. Esta afirmação é reforçada por Zhao et al., (2007), que conclui sobre a importância de se utilizar o conceito de “sala suja” em experimentação com leitões para evidenciar o efeito de determinados ingredientes.

Além do baixo desafio sanitário, utilizou-se aminoácidos sintéticos nas rações deste experimento, com baixo teor de Proteína Bruta (PB), sendo 19% dos 21 aos 35 dias e 17% dos 36 aos 49 dias. De acordo com Pierce et. al., (2007), a resposta da inclusão de lactose na dieta de leitões é maior em rações com alto teor de PB.

Outro fator que pode ter contribuído para que não fosse possível detectar efeito dos níveis de lactose sobre o desempenho dos leitões foi o baixo número de repetições utilizado no experimento. De acordo com Aaron & Hays, (2004), a determinação do número de repetições a ser adotada em experimentos de nutrição de suínos é decisiva

para a detecção de efeitos significativos. Foram utilizados no experimento seis repetições com três animais por repetição, sendo que Rostagno et al., (2007) recomenda, para melhorar a precisão em experimentos de desempenho com suínos e detectar diferenças de 2 a 4% entre os tratamentos, sejam utilizadas dez repetições com quatro animais por repetição.

Muito embora o aumento do nível de lactose das rações não tenha proporcionado melhora significativa do desempenho dos leitões, pode-se inferir, com base nos dados absolutos de desempenho e morfometria de mucosa que a lactose pode ter tido efeito benéfico sobre os leitões desmamados precocemente aos 21 dias de idade.

A melhora da saúde intestinal dos leitões atribuído à presença de lactose nas rações ocorre devido à fermentação microbiana deste carboidrato ao longo do intestino. Embora consista na principal fonte de energia para os leitões durante o aleitamento, a lactose exerce outras funções nutricionais como avanço da idade. A capacidade dos leitões de digerir a lactose por meio da enzima lactase no período que sucede à desmama está em gradativo declínio, e grande parte deste açúcar pode escapar da digestão no estômago para tornar-se substrato para a população microbiana, principalmente as bactérias do gênero *Lactobacillus* spp..

O aumento da quantidade de lactose nas rações alterou a composição da microbiota intestinal dos animais, promovendo melhora da saúde do intestino pelo aumento da quantidade de *Lactobacillus* spp. em relação ao total de microorganismos presentes.

As amostras de DNA total da digesta amplificadas com os iniciadores universais do rDNA 16S para o domínio *Eubactéria* total e específico para *Lactobacillus* spp, após serem submetidas à técnica de DGGE, estão apresentados na Figura 1. Observou-se que o aumento do nível de lactose nas dietas dos leitões proporcionou um ligeiro aumento

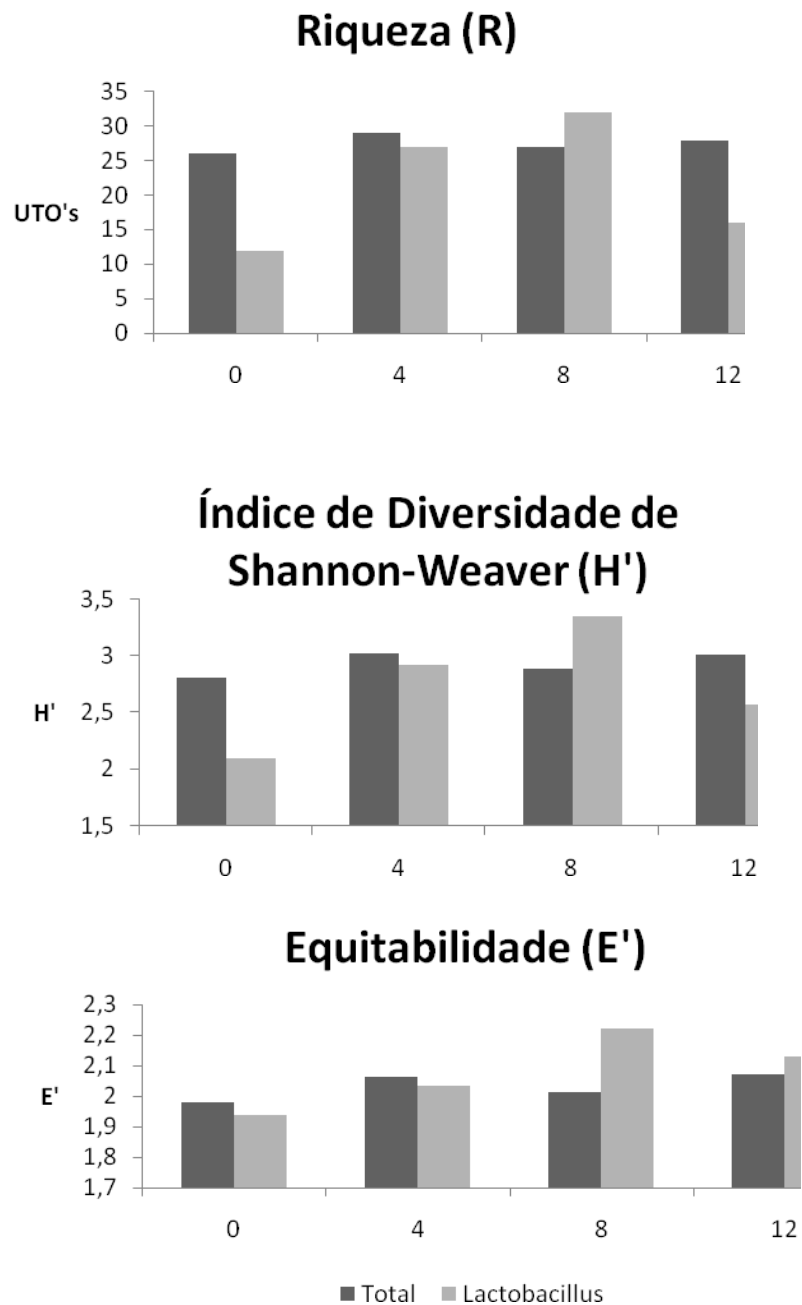
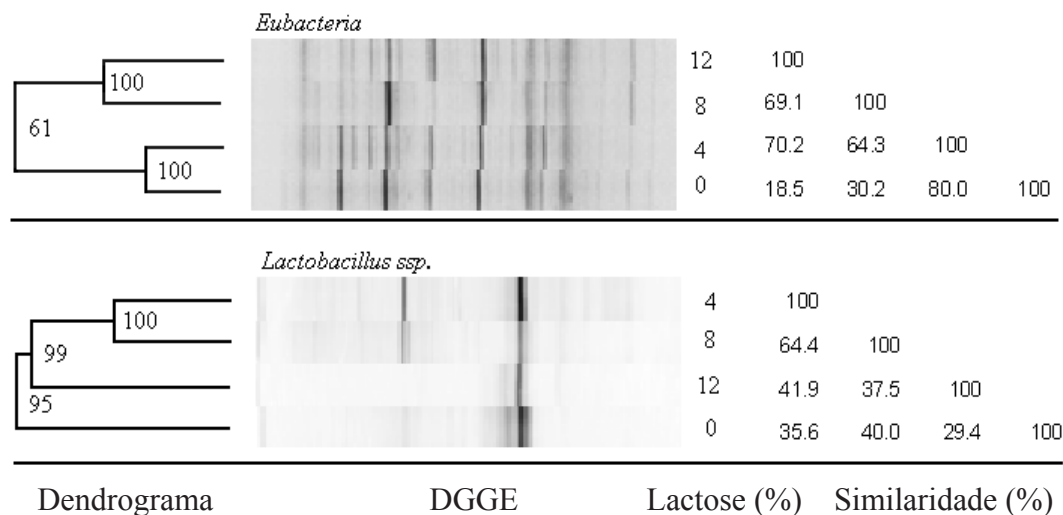


Figura 1 - Riqueza (R), Índice de Diversidade de Shannon-Weaver (H') e Equitabilidade (E) das comunidades bacterianas do conteúdo intestinal de leitões alimentados com 0, 4, 8 e 12 % de lactose, para *Eubactéria* total e *Lactobacillus* spp..

da Riqueza microbiana (R) de *Eubactéria* em relação ao tratamento que não continha lactose. A Riqueza microbiana, medida pela contagem das Unidades Taxonômicas Operacionais (UTO's) que é um indicativo da quantidade de microorganismos presentes no meio. A riqueza observada para os tratamentos com 0, 4, 8 e 12% de lactose foram, respectivamente, 26, 29, 27, 28. Com relação à comunidade composta por representantes do gênero *Lactobacillus* spp., a contagem de UTO's referentes aos tratamentos com 0, 4, 8 e 12% de lactose foram, respectivamente, 12, 27, 32 e 16. Quando se elevou o nível de lactose de 0 para 8%, observou-se uma aumento na contagem de UTO's para este gênero. Entretanto, quando o nível de lactose foi elevado de 8 para 12%, a resposta em UTO's não foi a mesma.

O Índice de diversidade ( $H'$ ) e a Equitabilidade ( $E'$ ) encontrados contribuem para a consolidação dos dados de Riqueza microbiana. Para *Eubactéria*, verificou-se uma menor diversidade para o nível de 0% de inclusão de lactose, que foi de 2,80, quando comparado ao  $H'$  verificado nos tratamentos com 4, 8 ou 12% que foram de 3,01; 2,88 e 2,99, respectivamente. Da mesma forma, para *Lactobacillus* spp. o maior  $H'$  foi verificado no nível de 8% de lactose, indicando que o nível de 12% foi limitante para alguns grupos pertencentes à este gênero, assim como o nível de 0% de lactose. A equitabilidade é um indicativo da ocorrência de dominância de uma espécie em relação às demais, e pode sugerir a condição de equilíbrio entre as populações de um determinado ambiente. Assim, pode-se afirmar que, ao avaliarmos a  $E'$  entre as populações de *Lactobacillus* spp. presentes nesta determinada porção o intestino, o nível de 8% de lactose proporcionou um maior equilíbrio entre as populações, o que pode ser benéfico à saúde intestinal dos animais.



**Figura 2.** Dendrograma, perfis eletroforéticos de DGGE e Similaridade (%) de seqüências do gene rDNA16S do conteúdo da digesta do cólon proximal de leitões alimentados com dietas contendo 0, 4, 8 e 12% de lactose para *Eubactéria* e *Lactobacillus spp.*.

A observação visual dos géis de DGGE do conteúdo da digesta do cólon proximal dos leitões alimentados com rações contendo 0, 4, 8 e 12% de lactose para *Eubactéria* e específico para *Lactobacillus spp.* (Figura 2) mostra padrões de bandejamento similares entre os tratamentos que continham lactose, de um mesmo gel, com a presença de bandas de mesmo alinhamento, bem coradas, entre todas as raias do gel.

As comunidades bacterianas ali representadas são, provavelmente, de populações de microrganismos estáveis perante as condições do local de coleta, a despeito das diferenças entre as áreas amostradas. Os perfis eletroforéticos de DGGE demonstram a existência de diferenças entre as bandas dos tratamentos.

O agrupamento por similaridade observado no gel de *Eubactéria* mostra, claramente, uma similaridade de 80% entre os tratamentos com 0 e 4% de lactose e uma similaridade de 69,1% entre os tratamentos com 8 e 12% de lactose. É possível observar claramente ainda, a não similaridade entre os dois grupos (0 e 4 vs. 8 e 12).

As bactérias não são distribuídas ao acaso ao longo do trato intestinal, mas as diferentes espécies e os níveis populacionais distribuem-se de acordo com

características específicas das regiões do trato. Esta especificidade resulta de diferenças no pH, da presença de enzimas digestivas e de sais biliares que podem modificar o trato intestinal criando “micro ambientes” nos quais a comunidade bacteriana será divergente (Pedroso et al., 2005). Assim, admite-se que a dieta é o principal fator que determina a composição da microbiota existente no lúmen intestinal dos animais (Pluske, 1997), o que explicaria o agrupamento por similaridade de amplicons de 64,4% verificada entre os tratamentos cujas rações continham 4 e 8% de lactose, com relação à população de *Lactobacillus*. Entretanto, corroborando os resultados de R, H' e E', que sugerem ocorrer inibição de alguns grupos de *Lactobacillus spp.* quando a ração continha 12% de lactose, foi constatada uma baixa similaridade do tratamento com 12% de lactose em relação aos tratamentos que continham 4 ou 8% de lactose, respectivamente de 41,9 e 37,5. A menor porcentagem de similaridade foi de 29,4%, verificada entre os tratamentos com 0 e 12% de lactose. Estes resultados indicam que, mesmo que as menores contagens de UTO's (Figura 1) tenham sido encontradas nos tratamentos com 0 e 12% de lactose devido provavelmente ao fato de estes níveis de lactose terem sido desfavoráveis ao crescimento de alguns grupos de *Lactobacillus spp.*, as populações microbianas entre estes dois tratamentos não são iguais.

De acordo com Delcenserie et al.; (2008) e Haller et al.; (2000), os inúmeros microorganismos do gênero *Lactobacillus* podem produzir diferentes citocinas inflamatórias, com funções imunológicas também diferentes.

A fermentação da lactose ao longo do intestino produz ácido lático e pode reduzir o pH intestinal (O'Connell et al., 2005; Pierce et al., 2005). A possível alteração do pH proporcionada pela presença de lactose na dieta pode ter influenciado a composição microbiota encontrada.

Outros trabalhos de pesquisa têm contribuído para a afirmação de que a dieta tem efeito sobre a microbiota intestinal de leitões, e que este efeito pode refletir no

desempenho dos animais. Oligossacarídeos são denominados probióticos por conferirem, seletivamente, aumento das bactérias saudáveis como *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacteria* que são bactérias reconhecidas por inibirem o crescimento de outras bactérias putrefativas ou patogênicas (Liu et al., 2008).

Pierce et al., (2007) verificou a ocorrência interação entre o nível de lactose (12,5 e 21,5%) e o teor de Proteína Bruta (16, 18,5 e 21%) das rações pode influenciar a composição da microbiota intestinal e também o desempenho dos animais. De acordo com Pierce et al., (2007), dietas com alto teor de PB e baixo nível de lactose permitem que os produtos da degradação da proteína sirvam de substrato para multiplicação de alguns microorganismos, tendo como produto da fermentação de aminoácidos os ácidos isobutírico e isovalérico, levando também à produção de metabólitos tóxicos como amônia e aminas. Por outro lado, a inclusão de alto teor de lactose inibiu tanto a produção de metabólitos finais da fermentação da proteína quanto a ocorrência de microorganismos responsáveis por isso.

Os resultados encontrados por Pierce et al., (2007) mostraram um aumento da contagem de *Lactobacillus spp.* em função do aumento do nível de lactose da ração, que não confirmam os resultados encontrados em nosso estudo. Utilizamos níveis de lactose variando de 0 a 12% enquanto Pierce et al., (2007) utilizou 12,5 e 21,5% de lactose.

Os resultados encontrados por Krause et al., (1995) em estudo com o objetivo de avaliar o efeito da dieta sobre a microbiota de leitões apontam para a necessidade de se aprofundar o conhecimento em ecologia microbiana e diversidade de microorganismos ao logo do trato e como eles interagem com a dieta e com o organismo. Em seu estudo comparando dietas à base de milho e soja com inclusão de 0 ou 40% de lactose ficou evidenciado que mesmo não sendo observado diferença no H' entre os tratamentos, a cultura em agar do conteúdo intestinal dos leitões para 12 espécies de *Lactobacillus spp.*

se mostrou bastante variada, o que concorda com os resultados encontrados neste trabalho.

Em nosso estudo, embora não tenha sido possível verificar diferença ( $P>0,05$ ) de desempenho ou de morfometria intestinal quando o nível de lactose das rações foi elevado de 0 para 12%, pode-se afirmar, com base nos dados da composição microbiana intestinal, que os animais alimentados com rações contendo lactose até o nível de 8% podem estar mais bem preparados para enfrentar uma situação de desafio sanitário intenso, como comumente ocorre em granjas comerciais.

## **Conclusão**

Os níveis de Lactose não influenciaram o desempenho e a morfologia intestinal dos leitões.

O nível de 8% de lactose proporcionou a melhor composição da microbiota intestinal dos animais.

## Literatura Consultada

- AARON, D.K.; HAYS, V.W. How many pigs? Statistical Power of considerations in swine nutrition experiments. **J. Anim. Sci.** 82:E245-254, 2004.
- BARBOSA, F.F. **Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade.** 45p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005
- BERTOL, T.M. **Alimentação dos leitões na creche de acordo com a idade de desmame.** Instrução Técnica para o Suinocultor, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia SC, 1999.
- BERTOL, T.M.; SANTOS FILHO, J.I.; LUDKE, J.V. Níveis de Suplementação com Lactose na Dieta de Leitões Desmamados **Rev. bras. zootec.**, 29(5):1387-1393, 2000.
- BUFFINGTON, D.E.; COLAZZO-AROCHO, A.; CANTON, G.H. et al., Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transaction of the ASAE**, v.24, p.711-714, 1981.
- CAMPOS, J.A.; TINÔCO, I. F.F.; BAÊTA, F.C.; SILVA, J.N.; CARVALHO, C.S.; MAUIRI, A.L. Ambiente térmico e desempenho de suínos em dois modelos de maternidade e creche. **Revista Ceres**, 55(3): 187-193, 2008.
- CROMWELL, G.L.; ALEE, G.L.; MAHAN, D.C.; Assesment of lactose levels in the mid- to late-nursery phase on performance of weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 86:127-133, 2008.
- DELCENSERIE, V.; MARTEL, D.; LAMOUREUX, M.; AMIOT, J.; BOUTIN, Y.; ROY, D. Immunomodulatory Effects of Probiotics in the Intestinal Tract **Curr. Issues Mol. Biol.** 10: 37-54. 2008.
- GASKINS, H.R.; COLLIER, C.T.; ANDERSON, D.B. Antibiotics as growth promotants: mode of action. **Animal Biotechnology**, v.13, n.1, p.29-42, 2002.
- GATTÁS, GUSTAVO; FERREIRA, A.S.; BARBOSA, F.F; SILVA, F. C. O.; DONZELE, J.L.; LOPES D.C. Plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 14 dias de idade **R. Bras. Zootec.**, v.37, n.2, p.278-285, 2008
- HALLER, C.; BODE, C.; HAMMES, W.P.; PFEIFER, A.M.A.; SCHIFFRIN, E.J.; BLUM, S. Non-pathogenic bacteria elicit a differential cytokine response by intestinal epithelial cell/leucocyte co-cultures; **Gut**, 47;79-87, 2000.

- HERDT, T. Fisiologia Gastrointestinal e Metabolismo caps 26 - 31 in CUNNINGHAM, J. P. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2ª ed. Editora Guanabara – RJ, pag. 213 – 305, 1999.
- KRAUSE, D.O.; EASTER, R.A.; WHITE, B.A.; MACKIE, R.I. Effect of weaning diet on the ecology of adherent lactobacilli in the gastrointestinal tract of the pig. **J. Anim. Sci.** 73:2347:2354, 1995.
- LIU, T., P. JIAN, Y. Z. XIONG, S. Q. ZHOU, AND X. H. CHENG.. Effects of dietary glutamine and glutamate supplementation on small intestinal structure, active absorption and DNA, RNA concentration in skeletal muscle tissue of weaned piglets during d 28 to 42 of age. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 15:238–242, 2002.
- LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J.J.; LEE, M.J. Diversity and Succession of the Intestinal Bacterial Community of the Maturing Broiler Chicken. **App. Envir. Microbiology**, 69:11-6816–6824, 2003.
- LUECKE, R. W.; THORP, F.; NEWLAND JR., H. W.; MCMILLEN W; N. The Growth Promoting Effects of Various Antibiotics on Pigs. 10:538-542. **J Anim Sci.** 1951.
- MAHAN, D. C.; FASTINGER, N. D.; PETERS J. C. Effects of diet complexity and dietary lactose levels during three starter phases on postweaning pig performance. **J Anim Sci.**, 82:2790-2797, 2004.
- MAHAN, D.C. Efficacy of dried whey and its lactalbumin and lactose components at two dietary lysine levels on postweaning pig performance and nitrogen balance. **J. Ani. Sci.** 70:2182-2187, 1992.
- MUYZER, G.; DE WALL, E.C.; UITTERLINDEN, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction – amplified genes coding for 16s rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695-700, 1993.
- O’CONNELL, J.M.; CALLAN, J.J.; O’DOHERTY, J.V. The interaction between cereal type and lactose level on piglet performance and diet digestibility post weaning. **British Society of Animal Science.** 81:265-269, 2005.
- ODUM, E.P. **Ecologia**. Rio de Janeiro. Editora Guanabara, 474p, 1993.
- PEDROSO, A.A.; OETTING, L.L.; UTIYAMA, C.E.; MENTEN, J.F.M.; LAMBAIS, M.R.; MIYADA, V.S. Variabilidade Espacial da Comunidade Bacteriana Intestinal de Suínos Suplementados com Antibióticos ou Extratos Herbais **R. Bras. Zootec.**, v.34, n.4, p.1225-1233, 2005.
- PIERCE, K.M.; CALLAN, J.J.; McCARTHY, P.; O’DOHERTY, J.V. Performance of weanling pigs offered low or high lactose diets supplemented with avilamycin or inulin. **British Society of Animal Science.** 80:313-318, 2005.
- PIERCE, K.M.; CALLAN, J.J.; McCARTHY, P.; O’DOHERTY, J.V. The interaction between lactose level and crude protein concentration on piglet post-weaning

- performance, nitrogen catabolism and faecal volatile fatty acid concentrations. **Ani. Feed Sci. and Tech.** 132:267-282, 2006.
- PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, 51:215-256, 1997.
- PLUSKE, J.R.; THOMPSON, M.J.; ATWOOD, C.S.; BIRD, P.H.; WILLIAMS, I.H.; HARTMANN, P.E. Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cow's whole milk after weaning. **British Journal of Nutrition**, v.76, p.409-422, 1996.
- POLLMANN, D.S.; DANIELSON, D.M.; PEO JR., E.R. Effect of *Lactobacillus spp. acidophilus* on starter pigs fed a diet supplemented with lactose. **J. Ani. Sci.** Vol 51, No. 3, 1980.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al., **Tabelas Brasileiras Para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa,, 141 p. 2005.
- ROSTAGNO, H.S.; BÜNZEN, S.; SAKOMURA, N.K.; ALBINO, L.F.T.; Avanços tecnológicos na avaliação de alimentos e exigências nutricionais para aves e suínos. **Rev. Bras. Zoot.** V. 36, suplemento especial, p-295-304, 2007
- SPREUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; GASKINS, H. R.; VERSTEGEN, M.W.A. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. **J. Nutr.** 131: 1520–1527, 2001.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.1. Viçosa, MG, 2003.
- WILLIAMS, B.A.; VERSTEGEN, M.W.A.; TAMMINGA, S. Fermentation in the large intestine and its relationship to animal health. **Nutrition Research Review**, 14:207-227, 2001.
- ZHAO, J.; HARPER, A. F.; ESTIENNE, M. J.; WEBB, JR., K. E.; MCELROY A. P.; DENBOW, D. M. Growth performance and intestinal morphology responses in early weaned pigs to supplementation of antibiotic-free diets with an organic copper complex and spray-dried plasma protein in sanitary and nonsanitary environments **J. Anim. Sci.** 85:1302-1310, 2007.

## Capítulo 2

### **Glutamina mais ácido glutâmico em rações contendo diferentes níveis de lactose para leitões desmamados aos 21 dias de idade**

**Resumo:** Objetivando-se avaliar os efeitos da adição de glutamina mais ácido glutâmico em rações com diferentes níveis de lactose para leitões desmamados aos 21 dias de idade, 108 leitões com peso inicial de  $6,12 \pm 0,70$  Kg foram distribuídos em delineamento em blocos ao acaso, com seis tratamentos, em esquema fatorial 3 x 2 (0, 4 e 8 % de lactose x com e sem suplementação com glutamina mais ácido glutâmico) com seis repetições e três animais por unidade experimental. As rações experimentais foram fornecidas aos animais dos 21 aos 35 dias. Dos 36 aos 49 dias os animais receberam uma mesma ração, sem lactose, porém, os animais dos tratamentos com glutamina mais ácido glutâmico na fase anterior continuaram recebendo ração contendo estes ingredientes. Não houve interação entre o nível de lactose e a inclusão de glutamina mais ácido glutâmico sobre nenhum dos parâmetros avaliados. Os níveis de lactose também não influenciaram ( $P < 0,05$ ) o desempenho dos leitões nos dois períodos avaliados, embora em valores absolutos, o tratamento com 4% de lactose tenha apresentado maior ganho de peso e consumo de ração nos dois períodos. A inclusão de glutamina mais ácido glutâmico nas rações influenciou positivamente o ganho de peso dos leitões dos 21 aos 49 dias de idade e promoveu aumento da altura das vilosidades no duodeno, jejuno e íleo do intestino dos leitões. Na porção do intestino correspondente a íleo, foi observado efeito da inclusão de glutamina mais ácido glutâmico nas dietas sobre a relação vilosidade:cripta dos leitões. A composição da microbiota intestinal foi afetada pelos níveis de lactose. Conclui-se que a inclusão de glutamina mais ácido glutâmico nas rações tem efeito benéfico sobre o desempenho e sobre a altura das vilosidades da mucosa intestinal dos leitões desmamados aos 21 dias de idade.

**Palavras-chave:** L-glutamina, L-ácido glutâmico, microbiota, morfologia de mucosa.

## **Glutamine plus glutamic acid in diets with different lactose levels for piglets weaned with 21 days of age**

**Abstract:** The effect of the addition of glutamine and glutamic acid in diets with different lactose levels fed to piglets weaned at 21 days of age was evaluated. 108 piglets with initial weight of  $6.12 \pm 0.70$  kg were allocated in randomized complete block designs, with six treatments in a 3 x 2 factorial design (0, 4 and 8 % lactose with or without glutamine and glutamic acid supplementation) conducted in six replicates with three animals per experimental unit. The experimental diets were fed to the animals between days 21 and 35 days. A standard lactose-free diet was administered from 36 to 49 days. The animals treated with glutamine and glutamic acid in the previous phase continued to receive the supplemented diet. There was no interaction between the lactose level and the addition of glutamine and glutamic acid and the evaluated parameters. The lactose levels had no effect ( $P < 0.05$ ) on the animal performance in both periods. In absolute terms, however, the treatment with 4% lactose promoted greater weight gain and feed intake in both periods. The diets added with glutamine and glutamic acid positively influenced the weight gain of piglets from 21 to 49 days old and increased villus height in the duodenum, jejunum and ileum of piglets. Effect of the addition of glutamine and glutamic acid on the villus/crypt relation was observed in the ileum. The intestinal microbiota composition was affected by the lactose levels. The addition of glutamine and glutamic acid in the diet had positive effects on the performance and intestinal villus height of piglets weaned at 21 days of age.

**Keywords:** L-glutamine, L-glutamic acid, microbiota, mucosal morphology

## Introdução

Na suinocultura industrial, a desmama precoce realizada aos 21 dias de idade representa um período de extremo desconforto ambiental na vida dos suínos jovens, com diversos agentes estressantes como a troca da forma física da ração, o estabelecimento de uma nova interação hierárquica, ausência da mãe e dos benefícios do leite materno, estresse por frio, etc. A combinação de todos estes agentes estressores resultam em uma impactante redução no consumo diário de ração, principalmente na primeira semana após a desmama. De acordo com Pinheiro & Machado (2007), o desempenho na primeira semana de desmame apresenta forte correlação com o peso na saída da creche e na quantidade de dias necessários para atingir o peso de abate.

Algumas estratégias nutricionais para leitões nesta fase têm sido adotadas para atenuar os efeitos deletérios da desmama e permitir que os animais expressem todo o seu potencial genético para ganho de peso. Dentre essas estratégias, a utilização da lactose tem sido amplamente utilizada devido ao aumento do consumo de alimento, que é atribuído à melhora da palatabilidade de ração. A lactose é um carboidrato encontrado naturalmente no leite de mamíferos, e suas fontes para a alimentação animal são o leite em pó, o soro de leite em pó, e mais recentemente, a lactose cristalina. A melhora do desempenho decorrente da inclusão de lactose nas rações para leitões tem sido também atribuída à manutenção da altura das vilosidades intestinais (Pluske et al., 1996), à acidificação do lúmen intestinal e conseqüente melhora da digestibilidade da ração, à melhora da saúde intestinal devido à sua atuação como substrato para microorganismos benéficos.

Entretanto, rações contendo lactose têm seu custo elevado devido a alto preço deste ingrediente, que também é utilizado na alimentação humana. Mesmo assim, Bertol et al (1999) recomenda a inclusão de 12 a 14% de lactose em rações para leitões

desmamados precocemente de 18 a 24 dias de idade. Dessa forma, é necessário que se busque ingredientes que, como a lactose ou por mecanismos distintos, sejam proporcionem melhora no desempenho dos leitões, principalmente na primeira semana após a apartação da mãe.

Fontes et al., (2007) citam a glutamina como ingrediente potencialmente melhorador do desempenho de leitões devido sua ação mantenedora da estrutura da mucosa do intestino delgado, além de seu papel como precursora proteínas, nucleotídeos e de poliaminas. A glutamina é principal aminoácido envolvido na multiplicação de células de intenso desenvolvimento, como os enterócitos da mucosa intestinal e as células do sistema imune (Abreu e Donzele, 2008; Wu et al., 1996) e recebeu, recentemente, a denominação de aminoácido condicionalmente essencial na ocasião da desmama por ter sua demanda aumentada nesta fase (Lopes, 2005).

Assim, verifica-se a necessidade de se avaliar o efeito da inclusão de glutamina em rações contendo níveis de lactose sobre o desempenho e sobre a morfometria da mucosa intestinal de leitões desmamados aos 21 dias de idade.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Foram utilizados 108 leitões (híbridos comerciais) desmamados aos  $21 \pm 1$  dias de idade e peso de  $6,12 \pm 0,70$  Kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com seis tratamentos e seis repetições, sendo três animais por unidade experimental. O peso na desmama e o parentesco dos animais foram considerados como critérios na formação dos blocos.

Os tratamentos corresponderam às rações contendo os níveis de 0, 4 e 8% de lactose, suplementadas ou não com 0,80% de L-Glutamina + L-Ácido Glutâmico, dos 21 aos 35 dias. Dos 36 aos 49 dias, todos os animais receberam a mesma ração isenta de lactose, sendo que aqueles que receberam 0,80% de L-Glutamina + L-Ácido Glutâmico dos 21 aos 35 dias passaram a receber 0,60% de L-Glutamina + L-Ácido Glutâmico. As rações experimentais dos 21 aos 35 dias (Tabela 1) e dos 35 aos 49 dias (Tabela 2), isoenergéticas, isolisínicas, isocálcicas e isofosfóricas foram formuladas para atender ou exceder as exigências de suínos na fase pré-inicial (7 a 15 kg) para todos os nutrientes (Rostagno et al., 2005).

Os animais foram alojados gaiolas suspensas, com pisos ripados, comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta, em galpão de alvenaria, com piso de concreto, forro de madeira e telhas de barro tipo francesa. A temperatura da sala foi registrada durante todo o experimento, por meio de termômetro de máxima e mínima, termômetro de bulbo seco e bulbo úmido e termômetro de globo negro, sendo utilizados, quando necessários, campânulas e/ou aquecedores. Os dados de temperatura, bulbo seco e bulbo úmido e globo negro foram posteriormente convertidos no

Tabela 1 – Composição centesimal e calculada das rações experimentais fornecida aos leitões dos 21 aos 35 dias.

Ingredientes	Tratamentos					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
	Lac 8	Lac 8 + A	Lac 4	Lac 4 + A	Lac 0	Lac 0 + A
Milho	46,168	45,361	50,977	50,170	53,089	51,792
Soja int. extrusada	19,000	19,000	18,000	18,000	23,500	24,000
Farelo de soja 45%	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000
Lactose cristalina	4,080	4,080	0,000	0,000	0,000	0,000
Leite em pó	7,700	7,700	7,700	7,700	0,000	0,000
L-Glutamina + L- Ác. Glutâmico	0,000	0,800	0,000	0,800	0,000	0,800
Plasma Sangüíneo	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Óleo de soja	0,190	0,190	0,450	0,450	0,000	0,000
Fosfato bicálcio	1,760	1,760	1,760	1,760	1,970	1,970
Calcário	0,573	0,573	0,576	0,576	0,640	0,642
Sal comum	0,336	0,336	0,336	0,336	0,410	0,410
Supl. Vitamínico <sup>1</sup>	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Supl. Mineral <sup>2</sup>	0,240	0,240	0,240	0,240	0,240	0,240
Promotor <sup>3</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Antioxidante <sup>4</sup>	0,010	0,010	0,010	0,010	0,000	0,010
L – lisina HCl	0,258	0,260	0,272	0,274	0,395	0,385
DL – Metionina	0,140	0,143	0,133	0,136	0,164	0,164
L – Treonina	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
L – Triptofano	0,015	0,015	0,016	0,016	0,025	0,024
Total	100	100	100	100	100	100
En. Met. (Mcal /Kg)	3400	3400	3400	3400	3400	3400
Proteína Bruta (%)	23,93	23,35	22,96	23,38	22,78	23,32
Lactose (%)	8,00	8,00	4,00	4,00	0,00	0,00
Lisina digestível (%)	1,400	1,400	1,400	1,400	1,400	1,400
Met + cist dig. (%)	0,784	0,784	0,784	0,784	0,784	0,784
Treonina dig. (%)	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882
Triptofano dig. (%)	0,266	0,266	0,266	0,266	0,266	0,266
Cálcio (%)	0,850	0,850	0,850	0,850	0,850	0,850
Fósforo total (%)	0,669	0,669	0,669	0,669	0,669	0,669
Fósforo disp. (%)	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500

<sup>1</sup> Contendo por kg de ração: vit. A - 12.000 UI; vit. D3 - 2.250 UI; vit. E - 27 mg; vit. K - 3 mg; tiamina - 2,25 mg; riboflavina - 6 mg; piridoxina - 2,25 mg; vit. B12 - 27 mcg; ácido fólico - 400 mcg; biotina - 150 mcg; ácido pantotênico - 22,5 mg; niacina - 45 mg; Se - 300 mcg.

<sup>2</sup> Contendo por Kg de ração: 112g Cálcio (mín.), 27,0g Fósforo (mín.), 58,5g Sódio, 1.820 mg Ferro, 2.049mg zinco, 2.126mg cobre, 836mg Manganês, 29,5mg Iodo, 485mg Flúor (máx.), 8mg Selênio, 3,6mg Cobalto,.

<sup>3</sup> Tilosina

<sup>4</sup> BHT

Tabela 2 – Composição centesimal e calculada da ração experimental fornecida aos leitões dos 35 aos 49 dias de idade.

Ingredientes	Tratamentos	
	RB	RB + A
Milho	57,786	57,180
Soja int. extrusada	18,000	18,00
Farelo de soja 45%	17,000	17,00
L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico	0,000	0,600
Plasma Sangüíneo	2,000	2,000
Óleo de soja	0,950	0,950
Fosfato bicálcio	1,990	1,990
Calcário	0,660	0,660
Sal comum	0,300	0,300
Suplemento vitamínico <sup>1</sup>	0,400	0,400
Suplemento mineral <sup>2</sup>	0,240	0,240
Promotor <sup>3</sup>	0,050	0,050
Antioxidante <sup>4</sup>	0,010	0,010
L – lisina HCl	0,326	0,328
DL – Metionina	0,166	0,168
L – Treonina	0,103	0,105
L – Triptofano	0,019	0,019
Total	100	100
Composição nutricional calculada		
Energia Met. (Mcal /Kg)	3400	3400
Proteína Bruta (%)	21,34	21,03
Lisina digestível (%)	1,250	1,250
Met + cist digestível (%)	0,750	0,750
Treonina digestível (%)	0,810	0,810
Triptofano digestível (%)	0,240	0,240
Cálcio (%)	0,850	0,850
Fósforo total (%)	0,690	0,688
Fósforo disponível (%)	0,500	0,500

<sup>1</sup> Contendo por kg de ração: vit. A - 12.000 UI; vit. D3 - 2.250 UI; vit. E - 27 mg; vit. K - 3 mg; tiamina - 2,25 mg; riboflavina - 6 mg; piridoxina - 2,25 mg; vit. B12 - 27 mcg; ácido fólico - 400 mcg; biotina - 150 mcg; ácido pantotênico - 22,5 mg; niacina - 45 mg; Se - 300 mcg.

<sup>2</sup> Contendo por Kg de ração: 112g Cálcio (mín.), 27,0g Fósforo (mín.), 58,5g Sódio, 1.820 mg Ferro, 2.049mg zinco, 2.126mg cobre, 836mg Manganês, 29,5mg Iodo, 485mg Flúor (máx.), 8mg Selênio, 3,6mg Cobalto,.

<sup>3</sup> Tilosina

<sup>4</sup> BHT

Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), conforme proposto por Buffington et al., (1981).

Os dados de temperatura, bulbo seco e bulbo úmido e globo negro foram posteriormente convertidos no Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), conforme proposto por Buffington et al., (1981).

Para avaliação do desempenho, os animais foram pesados no início, aos 35 dias e ao final do experimento (49 dias), e as sobras de ração foram coletadas diariamente e pesadas quando os animais atingiram 35 e 49 dias, ao final de cada período, determinando-se assim o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar.

Aos 49 dias de idade, um animal de cada unidade experimental, com peso mais próximo do peso médio da baia, foi abatido. Amostras de 2 cm de comprimento foram retiradas nas regiões correspondentes a 4, 50 e 96% do intestino delgado, que correspondem, respectivamente, à região do duodeno, jejuno e íleo. O material coletado foi enviado ao Laboratório de Histologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Os cortes histológicos foram lavados em solução fisiológica, fixado em BOUIN por 24 horas, desidratados em álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Em cada lâmina foram colocadas duas secções com 5µm de espessura. As lâminas foram colocadas novamente em solução de xilol para retirar o excesso de parafina e novamente hidratadas. Os corantes utilizados foram a hematoxilina e a eosina. Depois de coradas, as lâminas foram novamente desidratadas. Para as leituras morfométricas, foi utilizado o microscópio óptico OLYMPUS BX50 (aumento 40X) acoplado ao analisador de imagem "Image-Pro Plus 1.3.2" (1994). Foram selecionadas e medidas as alturas de 30 vilosidades e suas respectivas 30 criptas, bem orientadas e seccionadas longitudinalmente. A relação vilo:cripta também foi computada.

No dia do abate, amostras do conteúdo intestinal dos animais na região do cólon proximal foram coletadas em recipientes esterilizados e imediatamente congeladas. As amostras foram posteriormente enviadas ao Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa. Foi realizada a extração de DNA total da digesta utilizando-se protocolo de Lu et al., (2003), com modificações feitas no Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa. Para amplificar a região do gene rDNA 16S, correspondente a *Eubactéria* total, foram utilizados os iniciadores universais de *Eubactérias*, cujas seqüências nucleotídicas são: “primer” 2 (Unibac): 5’ATTACCGCGGCTGCTGG3’ e “primer” 3 (GC-Clamp): 5’CGCCCGCCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCA G3’ (Muyzer et al., 1993). Para amplificar a região do gene rDNA 16S que corresponde ao gênero *Lactobacillus* spp. utilizou-se os iniciadores específicos para *Lactobacillus* spp., cujas seqüências são: CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGTCCCGCCGCCCC CGCCCCTTTAYGCGGAACAYYTRGGKGT e CCAAACATCACVCCRACTT. O perfil genético da microbiota intestinal de suínos foi avaliado pela técnica de Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante – DGGE (MUYZER et al., 1993). Os dados obtidos com o auxílio do programa Bionumerics, versão 5.10, foram usados para calcular o Índice de Diversidade Shannon-Weaver (H), Equitabilidade (E’), Riqueza (R) e a Similaridade entre os tratamentos.

A variável R foi obtida com base em uma matriz binária, na qual a ausência da banda de DNA correspondente a cada UTO era codificada como zero (0) e a presença como um (1). Para cada nível de lactose, obteve-se a freqüência de ocorrência de cada UTO pela contagem do número de presenças entre os tratamentos avaliados. O índice H’ foi calculado com base na abundância, expressa como densidade ótica da banda na raia do gel, pela seguinte fórmula:

$$H' = \frac{2,3}{N} \left( N \log N - \sum ni \log ni \right), \text{ em que:}$$

**N** = densidade óptica da raia, obtida pelo somatório das densidades óticas das bandas da raia;

**ni** = densidade óptica de cada banda, na raia.

Para o cálculo de E, empregou-se a seguinte fórmula:

$$E = \frac{H'}{\log R}$$

Os dados de desempenho e morfometria de mucosa intestinal foram submetidos à análise de variância e teste F, utilizando-se o programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido na Universidade Federal de Vicosa - MG (UFV,1997).

## Resultados e Discussões

A temperatura no interior da sala de creche durante o período experimental manteve-se entre  $26,3 \pm 1,49$  °C (mínima) e  $30,0 \pm 1,12$  °C (máxima temperatura de bulbo seco média registrada foi de  $26,1 \pm 2,6$ ;  $27,6 \pm 1,2$  e  $27,4 \pm 2,8$ , respectivamente para os horários de 8, 12 e 17 horas. A umidade relativa média, nestes horários foi de  $68 \pm 8,1$ ;  $61 \pm 10,5$  e  $61 \pm 9,3\%$ , respectivamente. O índice de temperatura, de globo negro e umidade (ITGU) realizadas às 8, 12 e 17 horas foram de  $77,7 \pm 1,6$ ;  $78,3 \pm 1,3$  e  $78,4 \pm 1,6$ , respectivamente para estes horários. Pelos valores de ITGU obtidos neste estudo e considerando que segundo os relatos de Campos et al., (2008), índices de ITGU até 80 representam ambientes de conforto térmico para leitões nesta fase, pode-se inferir que a temperatura ambiente não foi um fator que interferiu nos resultados.

Não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) da interação entre os níveis de lactose e a inclusão de glutamina + ácido glutâmico sobre nenhum dos parâmetros avaliados.

O peso inicial (Pi), o peso aos 35 dias (P35), o peso aos 49 dias (P49) dos animais e os resultados de ganho de peso diário (GPD), consumo de ração diário (CRD) e conversão alimentar (CA) dos leitões consumindo dietas suplementadas ou não com L-glutamina + L-ác. glutâmico estão apresentados na Tabela 3.

A inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico também não influenciou ( $P > 0,05$ ) o desempenho dos leitões dos 21 aos 35 dias de idade.

Entretanto, em valores absolutos, a inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico nas rações proporcionou um aumento de 4,6; 11,1 e 8% no P35, GPD e CRD dos leitões, respectivamente. Além disso, observou-se uma redução de 3,2% na CA com a inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico, ainda em valores absolutos.

Tabela 3 – Efeito da inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico (A) sobre o desempenho de leitões desmamados aos 21 dias de idade, avaliados dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias de idade.

	L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico <sup>1</sup>		CV (%)
	SGL <sup>2</sup>	CGL <sup>3</sup>	
21 – 35 dias			
P21	6,11	6,21	1,41
P35	9,15	9,57	6,84
GPD	215	239	20,38
CRD	278	300	16,18
CA	1,30	1,26	8,72
	SA <sup>2</sup>	CA <sup>3</sup>	
21 – 49 dias			
P21	6,11	6,21	1,41
P49	15,65 <sup>b</sup>	16,76 <sup>a</sup>	7,34
GPD	341 <sup>b</sup>	376 <sup>a</sup>	11,97
CRD	480	519	11,06
CA	1,41	1,38	5,99

As letras diferentes na linha diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>1</sup> Produto comercial contendo L-Glutamina + L-Ácido Glutâmico (min. 95%);

<sup>2</sup> Sem L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico;

<sup>3</sup> Com L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico.

Dos 21 aos 49 dias de idade, que representa o período total do experimento, verificou-se efeito ( $P > 0,05$ ) da inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico nas rações sobre o peso aos 49 dias de idade e sobre o GPD dos leitões, proporcionando um aumento significativo de 7,1 e 10,2%, respectivamente, em relação aos animais que receberam rações sem L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico. Pode-se observar também que, em valores numéricos, houve um aumento de 8,1 no CRD dos leitões, embora a CA tenha sido reduzida apenas 2,1%.

O efeito benéfico da inclusão de glutamina + ácido glutâmico nas rações de leitões sobre o desempenho estão de acordo com os resultados encontrados por Wu et al., (1996) e Kitt et al., (2003).

Estudos com leitões desmamados realizados por Wu et al., (1996) consideram que a glutamina é o aminoácido mais abundante presente no leite da porca, é o principal

combustível para os enterócitos e é um nutriente essencial para proliferação de linfócitos no intestino, e afirmam que uma suplementação de glutamina na primeira semana após o desmame tem como finalidade suprir a alta atividade metabólica dos enterócitos e das criptas intestinais, para sustentar a estrutura da parede intestinal, que é a interface funcional entre o organismo e a digesta. Wu et al., (1996), avaliando 4 níveis de suplementação de glutamina (0; 0,2; 0,6 e 1,0%) sobre o desempenho e a morfometria da mucosa intestinal de leitões desmamados, analisados na desmama, na primeira e na segunda semanas subseqüentes, verificaram melhora ( $P>0,05$ ) da eficiência alimentar (Kg ganho:Kg ração) dos animais dos 7 aos 14 dias após a desmama, da ordem de 25% em relação à eficiência alimentar dos animais que não receberam ração suplementada com glutamina, embora o GPD e o CRD não tenham sido significativamente afetados.

Kitt et al., (2003) testou o efeito da inclusão de 5% de glutamina em dietas para leitões desmamados desafiados por LPS (*E. coli* Lipopolissacarideo). Os autores relatam que a injeção de LPS provocou, além de diarreia, uma queda acentuada no desempenho dos animais em comparação ao controle, o que não foi observado nos animais alimentados com ração contendo glutamina.

Os resultados de altura de vilosidades (AV), profundidade de criptas (PC) e relação vilo:cripta (RVC) dos diferentes segmentos (duodeno, jejuno e íleo) do intestino delgado dos leitões alimentados com rações suplementadas ou não com L-glutamina + L-ácido glutâmico estão apresentados na Tabela 4.

A inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico (0,8% dos 21 aos 35 e 0,6% dos 36 aos 49 dias) proporcionou ( $P>0,05$ ) aumento da altura das vilosidades em todos os três segmentos do intestino delgado avaliados, que ficou 7,67; 24,1 e 6,6% maiores do que os apresentados pelos animais que não receberam L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico

Tabela 4 - Efeito da inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico (GL) sobre a morfometria da mucosa intestinal de leitões desmamados aos 21 dias de idade, avaliados aos 49 dias de idade.

	L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico <sup>1</sup>		CV (%)
	S/GL <sup>2</sup>	C/GL <sup>3</sup>	
<i>Duodeno</i>			
AV	482b	519a	9,66
PC	217	219	12,03
RVC	2,30	2,35	9,21
<i>Jejuno</i>			
AV	442b	488a	12,75
PC	190	198	13,62
RVC	2,32	2,49	11,81
<i>Íleo</i>			
AV	393b	419a	8,49
PC	171	172	14,47
RVC	2,31b	2,50a	11,47

As letras diferentes na linha diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>1</sup> Produto comercial contendo L-Glutamina + L-Ácido Glutâmico (min. 95%);

<sup>2</sup> Sem L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico;

<sup>3</sup> Com L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico.

na dieta, respectivamente no duodeno, jejuno e íleo. No entanto, a inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico não afetou ( $P>0,05$ ) a PC em nenhum dos segmentos avaliados, cujos valores encontrados nos dois tratamentos foram muito próximos. A RVC, que é o resultado da divisão entre a medida de altura de vilosidade e a medida de sua respectiva cripta foi positivamente afetada ( $P>0,05$ ) pela inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico na dieta, evidentemente pelo aumento da AV. Os animais alimentados com ração contendo L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico em sua composição apresentaram RVC 2,1; 7,3 e 8,2% maiores ( $P>0,05$ ) do que aqueles cujas rações não continham L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico, respectivamente no duodeno, jejuno e íleo.

Estes resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Wu et al., 1996 e Yi et al., (2005).

Evidenciando o efeito da glutamina sobre a altura das vilosidades intestinais de leitões após a desmama, Wu et al., 1996 relatam que, além de melhora substancial do desempenho dos animais, a inclusão de 1,0% de glutamina em rações de leitões foi capaz de prevenir a atrofia da altura das vilosidades no jejuno, tanto na primeira quanto na segunda semana após a desmama.

Yi et al., (2005) comparou o efeito da inclusão glutamina ou plasma em rações para leitões desmamados aos 17 dias de idade, desafiados por *Escherichia coli* e verificou que tanto a inclusão de 2% de glutamina quanto a inclusão de 7% de plasma aumentaram ( $P>0,01$ ) das altura de vilosidades e a profundidade das criptas dos leitões em relação ao tratamento desafiado, embora a inclusão de glutamina tenha proporcionado melhor desempenho. Os autores atribuíram o efeito benéfico da glutamina principalmente à preservação da estrutura da mucosa intestinal e a manutenção da absorção de eletrólitos e homeostase intestinal, prevenindo a diarreia.

A nutrição de leitões é intimamente ligada ao sistema imune. Sabe-se que a desmama precoce é relacionada com imunossupressão, redução do consumo voluntário e suscetibilidade a distúrbios intestinais. De acordo com Newsholme, (2001), o aumento da demanda de glutamina em condição de estresse faz aumentar a liberação de glutamina pelo músculo, resultando em redução da concentração muscular deste aminoácido e elevação das taxas de degradação de proteína, o que não se deseja em animais em crescimento.

Trabalhando com leitões desmamados infectados ou não por *E. coli*, Yoo et al, (1997) verificaram que a suplementação com glutamina foi capaz de manter a concentração de glutamina no músculo, bem como as concentrações de linfócitos e leucócitos. Entretanto, os autores não relatam efeito da suplementação com glutamina sobre os animais não desafiados.

A suplementação com glutamina pode ter, portanto, sua importância atribuída também à manutenção de sua concentração extracelular, evitando que a glutamina muscular seja mobilizada para atender à necessidade do sistema imunológico.

De acordo com Karinch et al., (2001), infecções moderadas ou severas alteram de forma marcante o fluxo de glutamina no organismo. A complexidade do metabolismo da glutamina em diferentes condições sanitárias de criação pode explicar porquê, em nosso trabalho, mesmo não sendo detectado efeito ( $P > 0,05$ ) da lactose sobre o desempenho e morfometria da mucosa dos leitões, a inclusão de glutamina nas rações proporcionou melhora significativa do GPD e da altura das vilosidades intestinais. De maneira geral, os animais apresentaram boa saúde, indicando um baixo desafio sanitário. Nessas condições, o intestino delgado é o órgão de maior captação de glutamina no organismo, que é fornecida principalmente pelo músculo (Karinch et al., 2001), o que explicaria o aumento da altura das vilosidades e conseqüente aumento do GPD dos animais.

Em condições de resposta inflamatória sistêmica (*sepsis*), como a indução a desafio imunológico observada nos trabalhos citados (Kitt et al., 2003; Yi et al., 2005 e Yoo et al., 1997), o fígado passa a ser o órgão de maior captação da glutamina e também o maior exportador deste aminoácido, que agora serão destinados também para a síntese de células do sistema imune, devido ao aumento providencial na produção destas células específicas (Karinch et al., 2001).

O efeito da glutamina e do ácido glutâmico, neste estudo, se mostrou evidente mesmo que não tenha sido induzida qualquer resposta inflamatória nos animais. Além do baixo desafio sanitário refletido no baixo número de animais acometidos de diarreia durante o experimento e boa saúde global dos leitões, a condição ambiental de desafio sanitário normalmente encontrada na primeira semana após a desmama precoce de

leitões foi atenuada pela sanitização das salas pela inclusão de plasma sanguíneo e antibiótico nas rações experimentais.

Os resultados de Riqueza (R), Índice de Diversidade de Shannon (H'), e Equitabilidade (E') estão apresentados na figura 1.

A Riqueza microbiana expressa em contagem de Unidades Taxonômica Operacionais (UTO's) representa quantitativamente a população microbiana de um determinado ambiente. Observou-se que o nível de 4% de inclusão de lactose nas rações proporcionou as maiores contagens de UTO's, tanto nas rações não suplementadas (29 UTO's) quanto nas rações suplementadas (27 UTO's) com L-glutamina + L-ac. glutâmico. Com relação à comunidade de *Lactobacillus* spp., nos animais alimentados com rações sem glutamina + ac. glutâmico o aumento do nível de lactose de 0 para 8% proporcionou aumento crescente a contagem de UTO's. Entretanto, o padrão de resposta à inclusão de L-glutamina + L-ac. glutâmico para a quantidade de *Lactobacillus* spp. não se manteve, sendo que o nível com 4% de lactose apresentou o menor valor de UTO (11).

De forma semelhante, o Índice de Diversidade de Shannon-Weaver (H') acompanhou os resultados de Riqueza. Considerando apenas a comunidade de Eubactéria, o nível de 4% apresentou os maiores valores de UTO's, sendo verificados H' igual a 3,01 e 2,92, respectivamente para os animais alimentados com rações não suplementadas quanto para os animais alimentados com rações suplementadas com glutamina + ac. glutâmico. O aumento do nível de lactose de 0 para 8% nas rações dos animais que não receberam suplementação por glutamina proporcionou aumento do H' de 2,09 para 3,34.

A Equitabilidade (E') é um indicativo da uniformidade na distribuição dos grupos de microorganismos encontrados em um ambiente, evidenciando uma possível dominância existente. Quanto maior a E', maior o equilíbrio entre as populações. Os

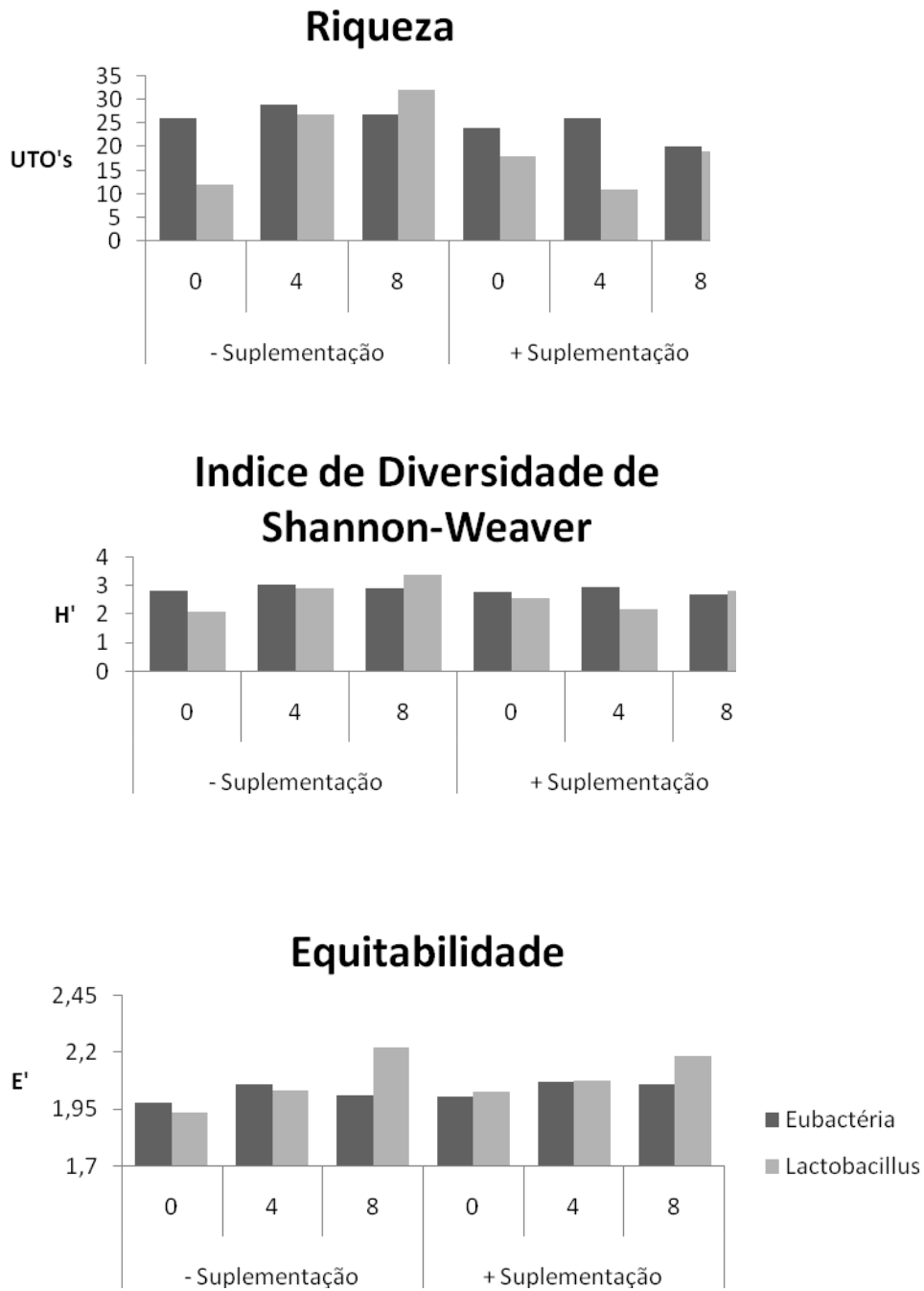


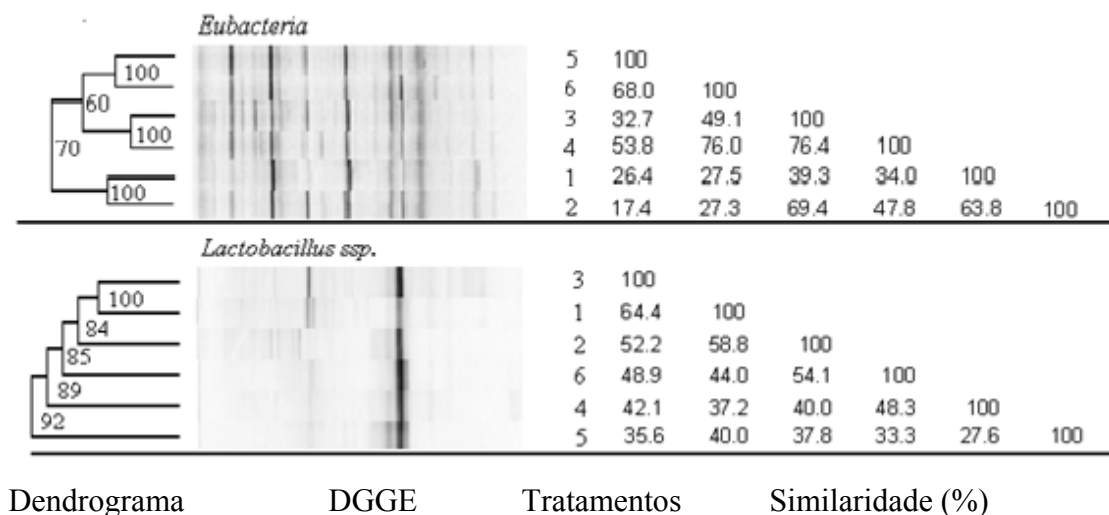
Figura 1 - Riqueza (R), Índice de Diversidade de Shannon-Weaver (H') e Equitabilidade (E) das comunidades bacterianas do conteúdo intestinal de leitões alimentados com rações contendo níveis de lactose suplementadas (+) ou não (-) com glutamina + Ac. Glutâmico.

resultados referentes a *Eubactéria* indicam de forma consistente que o nível de 0% de lactose proporcionou os menores valores de E', tanto nas rações não suplementadas (1,98) quanto nas rações suplementadas (2,01) com glutamina + ac. glutâmico, o que nos permite inferir sobre a provável dominância exercida por determinado microorganismo em relação aos demais. Com relação aos grupos de *Lactobacillus* spp., verificou-se aumento da E' quando se aumentou o nível de lactose, tanto para os animais não suplementados quanto suplementados, que foram, respectivamente, 2,22 e 2,18.

No que se refere à riqueza e diversidade da microbiota intestinal dos leitões, muito embora a associação da inclusão de glutamina + ac. glutâmico com os níveis de 4 e 8% de lactose não tenham acompanhado o mesmo padrão de resposta dos animais alimentados com ração sem suplementação para *Lactobacillus* spp., não é possível afirmar que a inclusão de glutamina + ac. glutâmico tenha influenciado a composição desta microbiota

Os aminoácidos sintéticos L-Glutamina + L-Ac. Glutâmico possuem alta digestibilidade, sendo totalmente utilizados até a porção ileal do intestino delgado. Stool et al., (1998) postulam que a glutamina é toda degradada no intestino delgado, o que não permitiria sua fermentação por bactérias no intestino grosso, onde foram coletadas as amostras da digesta.

Os resultados sugerem, de forma geral, que a inclusão de lactose tem efeito benéfico sobre a microbiota, corroborando os resultados do Experimento e que a suplementação com L-Glutamina + L-Ac. Glutâmico não exerce influência sobre a microbiota. A eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) é apresentada na Figura 2, mostrando os perfis de similaridade entre os tratamentos e contribuindo para a consolidação da afirmação acima.



**Figura 2.** Dendrograma com Coef. Cofenético, Perfis eletroforéticos de DGGE e Similaridade (%) de seqüências do gene rDNA16S do conteúdo da digesta do cólon proximal de leitões alimentados com dietas contendo 0, 4,8 e 12% de lactose para *Eubactéria* e *Lactobacillus spp.*.

Observou-se, para a comunidade de *Eubactéria*, uma alta similaridade entre os tratamentos com os mesmos níveis de lactose (T1 e T2 = 0%; T3 e T4 = 4% e T5 e T6 = 8% de lactose). A similaridade observada entre os tratamentos com o mesmo nível de lactose foi de 68,0; 76,4 e 63,8, respectivamente para os níveis de 0, 4 e 8% de lactose. Ainda foi possível observar que os tratamentos com 0 e 4% de lactose, com ou sem inclusão de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico apresentaram entre si, uma similaridade mediana, menor do que a verificada entre os tratamentos com o mesmo nível de lactose. A similaridade é um indicativo da semelhança entre as comunidades microbianas em microecossistemas, que no caso da digesta de animais é influenciada principalmente pela dieta.

Os resultados sugerem que o nível de lactose exerce influência sobre a comunidade bacteriana total no cólon de leitões, e não presença de L-Glutamina + L-Ác. Glutâmico nas rações.

## **Conclusão**

A adição de Glutamina mais ácido glutâmico em rações para leitões desmamados aos 21 dias de idade promovem melhoria do desempenho e da altura da morfometria da mucosa intestinal dos leitões, independentemente da adição de lactose.

O nível de 8% de lactose promoveu melhora na composição da microbiota intestinal dos leitões.

## Literatura Consultada

- ABREU, M.L.T.; DONZELE, J.L. Glutamina na nutrição de leitões. **Anais do V Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos – CBNA**. Cascavel, PR, pág. 75-80, 2008.
- BERTOL, T.M. **Alimentação dos leitões na creche de acordo com a idade de desmame**. Instrução Técnica para o Suinocultor, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia SC, 1999.
- BUFFINGTON, D.E.; COLAZZO-AROCHO, A.; CANTON, G.H. et al., Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transaction of the ASAE**, v.24, p.711-714, 1981.
- CAMPOS, J.A.; TINÔCO, I. F.F.; BAÊTA, F.C.; SILVA, J.N.; CARVALHO, C.S.; MAUIRI, A.L. Ambiente térmico e desempenho de suínos em dois modelos de maternidade e creche. **Revista Ceres**, 55(3): 187-193, 2008.
- KARINCH, A.M.; PAN, M.; LIN, C.M.; STRANGE, R.; SOUBA, W.W. Glutamine metabolism in sepsis and infection. **Journal of Animal Science**, 131:2535S-2538S, 2001.
- KITT, S.J.; MILLER, P.S.; FISCHER, R.L. Effects of glutamine on growth performance and intestinal development of immune challenged weaning pigs fed chemically defined diets. **Nebraska Swine Report**, p. 34-38, 2003.
- LOPES, P.F. Efeitos da glutamina sobre a parede intestinal e sua aplicabilidade potencial em coloproctologia. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, 25(1):75-78. 2005.
- LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J.J.; LEE, M.J. Diversity and Succession of the Intestinal Bacterial Community of the Maturing Broiler Chicken. **Applied Environment Microbiology**, 69:11-6816–6824, 2003.
- MACHADO G.S.; FONTES, D.O. Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune em suínos. In: ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. **II Simpósio Internacional sobre exigências Nutricionais de aves e Suínos**. Viçosa-MG, 2005, p. 293-314.
- MUYZER, G.; DE WALL, E.C.; UITTERLINDEN, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction – amplified genes coding for 16s rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695-700, 1993.

- NEWSHOLME,P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **Journal of Nutrition**, 131:2515S-2522S, 2001.
- PINHEIRO; R.W; MACHADO, G.S. Desempenho do leitão a primeira semana pós desmama: como atingir e porquê gerenciar este parâmetro. In: CANTARELI, V.S.; SILVEIRA, H.; ROSA, B.O.; SILVA, F.E.J.; WOLP, R.C.; RODRIGUES, V.V.; FIALHO, E.T. **II Simpósio de Suinocultura**, Lavras-MG, p. 125-145, 2007.
- PLUSKE, J.R.; THOMPSON, M.J.; ATWOOD, C.S.; BIRD, P.H.; WILLIAMS, I.H.; HARTMANN, P.E. Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monossacharide absorption, in piglets fed on cow's whole milk after weaning. **British Journal of Nutrition**, v.76, p.409-422, 1996.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al., **Tabelas Brasileiras Para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa,, 141 p. 2005.
- STOOL, B.; HENRY, J.; REEDS, P.J.; YU, H.; JAHOOR, F.; BURRIN, D. Catabolism dominates the first-pass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milk protein-fed piglets. **Journal of Nutrition**. 128: 606–614, 1998.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.1. Viçosa, MG, 2003.
- WU, G.; MEIER, S.A.; KNABE, D.A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v.126:2578-2584, 1996.
- YI, G. F.; CARROLL, J. A.; ALLEE, G. L.; GAINES, A. M.; KENDALL, D. C.; USRY, J. L.; TORIDE, Y.; IZURU, S. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of Escherichia coli K88+-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, 83:634-643, 2005.
- YOO, S. S.; FIELD, C. J.; MCBURNEY. M. I. Glutamine supplementation maintains intramuscular glutamine concentration and normalize lymphocyte function in infected early weaned pigs. **Journal of Nutrition**, 127: 2253-2259, 1997.