



JOÃO PEDRO FERREIRA GUIMARÃES

**DESEMPENHO E HISTOMORFOMETRIA INTESTINAL DE
FRANGOS DE CORTE EXPOSTOS A ESTRESSE POR
CALOR E ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO
PROBIÓTICOS**

**LAVRAS-MG
2022**

JOÃO PEDRO FERREIRA GUIMARÃES

**DESEMPENHO E HISTOMORFOMETRIA INTESTINAL DE
FRANGOS DE CORTE EXPOSTOS A ESTRESSE POR
CALOR E ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO
PROBIÓTICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Colegiado do curso de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Profa. Dr^a. Luciana de Paula Naves
Orientadora

**LAVRAS-MG
2022**

JOÃO PEDRO FERREIRA GUIMARÃES

**DESEMPENHO E HISTOMORFOMETRIA INTESTINAL DE
FRANGOS DE CORTE EXPOSTOS A ESTRESSE POR
CALOR E ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO
PROBIÓTICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Colegiado do curso de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

APROVADO em 28 de março de 2022

Msc. Jéssica Carla das Dôres Ribeiro – UFLA

Dr. Alisson Hélio Sampaio Clemente – UFLA



Profa. Dr^a. Luciana de Paula Naves
Orientadora

**LAVRAS-MG
2022**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por cada dia a mais nesse paraíso.

Aos meus familiares, agradeço todo o apoio. Em especial à minha mãe Andréia, grande apoiadora e incentivadora durante toda minha vida e que, mesmo frente a dificuldades, se manteve firme em seu papel de mãe e pai e não mediu esforços para educar-me e transmitir seus valores tão preciosos.

À minha companheira Daiane, por todos estes anos, durante os quais crescemos juntos nas esferas profissional e pessoal. Agradeço por todo amor, carinho e paciência.

Aos amigos de longa data Estevão Diniz, Tulio Nicolas, José Nunes e José Samuel, pelas ideias, incentivo e bons momentos compartilhados.

Aos amigos da Graduação em Zootecnia Jeferson Gomes e Maria Izabel, pelo apoio e motivação.

Aos docentes e funcionários do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras por todos os ensinamentos e dedicação. Em especial, à professora Luciana de Paula Naves, pelo apoio, confiança, motivação e oportunidades para o meu crescimento pessoal e profissional.

*” O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo.
Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas
admiráveis.”*

José de Alencar

RESUMO

A saúde intestinal está diretamente relacionada à eficiência no aproveitamento dos nutrientes da dieta. Em situações de estresse por calor, desafio da avicultura moderna, efeitos deletérios podem ocorrer no intestino, o que pode vir a prejudicar o desempenho dos frangos. Os aditivos conhecidos como eubióticos têm sido alternativas à utilização de antimicrobianos melhoradores de desempenho. Neste sentido, objetivou-se avaliar os efeitos de probióticos não comerciais sobre o desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade. Foram utilizados 720 frangos de corte machos da linhagem Cobb-500 no período de 1 a 42 dias de idade. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, sendo os blocos os lados direito e esquerdo do galpão. Oito tratamentos foram avaliados em seis repetições de 15 aves cada, totalizando 48 unidades experimentais (boxes). As dietas foram formuladas considerando-se as exigências nutricionais dos frangos nos períodos de 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade, conforme o manual da linhagem. As dietas experimentais consistiram em: dieta basal (DB) sem antibiótico e sem probiótico; DB + antibiótico (bacitracina de zinco; 55 mg/kg de ração); DB + probiótico comercial (*Bacillus subtilis* DSM 17299; 1×10^9 UFC/kg de ração); DB + probióticos não comerciais (*Lactococcus lactis* NCDO 2118, *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ 327, *Escherichia coli* CEC 15 ou *Saccharomyces boulardii*, cada um avaliado isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/kg de ração) e DB + associação dos quatro probióticos não comerciais (1×10^9 UFC/kg de cada, totalizando 4×10^9 UFC/kg de ração). O consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) foram determinados nos períodos de 1 a 7, 1 a 21, 1 a 35 e 1 a 42 dias de idade dos frangos. Aos 7, 21, 35 e 42 dias de idade, um frango por unidade experimental foi abatido (totalizando seis frangos por tratamento) e foram coletadas amostras de jejuno, destinadas para as análises de histomorfometria intestinal (altura e largura da vilosidade, profundidade e largura da cripta, altura da mucosa, relação vilo/cripta, área de superfície das vilosidades e área de absorção intestinal). Não houve diferença ($P > 0,05$) para o CR em nenhum dos períodos avaliados, sendo registrado o consumo médio geral de 5,433 kg de ração/frango no período total de criação (1 a 42 dias de idade). Não houve diferença ($P > 0,05$) para GP e CA nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 35 dias de idade. Os frangos criados em condição de estresse por calor e alimentados com DB sem antibiótico e sem probiótico exibiram menor ($P < 0,05$) GP e pior CA no período de 1 a 42 dias de idade. Entretanto, as dietas contendo os probióticos não comerciais de forma isolada ou associada resultaram em melhor ($P < 0,05$) GP e CA, semelhante ao observado para o grupo suplementado com bacitracina de zinco ou *Bacillus subtilis* DSM 17299. Para os parâmetros de histomorfometria do jejuno, não houve diferença ($P > 0,05$) em nenhum dos períodos avaliados. Conclui-se que todos os probióticos não comerciais (testados de maneira isolada ou combinada) proporcionaram GP e CA semelhante aos frangos que receberam ração contendo o antibiótico bacitracina de zinco e aqueles alimentados com ração contendo o probiótico comercial *Bacillus subtilis* DSM 17299.

Palavras-chave: Aditivos. Antimicrobianos. Avicultura. Nutrição funcional. Saúde intestinal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Áreas de medidas de histomorfometria intestinal	11
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas basais fornecidas nas diferentes fases de criação dos frangos de corte.....	6
Tabela 2 – Temperaturas registradas no galpão durante todo o período experimental.....	9
Tabela 3 – Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.	13
Tabela 4 – Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.....	15
Tabela 5 – Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.....	17
Tabela 6 – Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.....	18
Tabela 7 – Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.....	19

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	1
2.1	Probióticos na avicultura	1
2.2	Estresse por calor na avicultura	3
3	MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1	Aves, delineamento e dietas experimentais.....	5
3.2	Instalações e condições experimentais	7
3.3	Procedimentos experimentais e parâmetros avaliados.....	8
3.3.1	Desempenho dos frangos de corte	8
3.3.2	Histomorfometria intestinal.....	10
3.4	Análise estatística	11
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
5	CONCLUSÕES.....	20
	REFERÊNCIAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

A produção de carne de frango brasileira no ano de 2020 teve grande destaque mundial com produção de 13,8 milhões de toneladas, sendo o Brasil o terceiro maior produtor do mundo e o primeiro exportador com 4,2 milhões de toneladas exportadas (ABPA, 2021). Neste contexto, para assegurar maior produtividade mesmo com todos os desafios no campo, a utilização de aditivos como os probióticos em dietas avícolas tem se mostrado uma estratégia para minimizar os efeitos prejudiciais do estresse por calor.

A busca por alternativas aos antibióticos melhoradores de desempenho na produção animal tem proporcionado o surgimento de soluções promissoras no setor agropecuário relacionado a produção de frangos de corte. Na produção avícola há várias alternativas, e dentre estas, um grupo de aditivos que tem ganhado cada vez mais atenção são os probióticos que tem demonstrado diversas melhorias, tanto na saúde como no desempenho zootécnico desses animais (SOOMRO et al., 2019; REHMAN et al., 2020).

Atualmente um dos grandes desafios que tem impactado a avicultura industrial é o estresse por calor, pois frangos de linhagens de rápido crescimento exibem maior consumo de ração, maior taxa metabólica, maior produção de calor corporal e, conseqüentemente, maior susceptibilidade ao estresse por calor (JAHROMI et al., 2016; GREENE; RAJAEI; DRIDI, 2019). Portanto, pesquisas têm sido conduzidas para avaliar frangos criados em condição de estresse por calor e alimentados com dietas suplementadas com probióticos (SONG et al., 2014.; SUGIHARTO et al., 2017; CRAMER et al., 2018).

Os probióticos que foram testados na presente pesquisa possuem tecnologia de produção nacional e foram produzidos pelos pesquisadores parceiros no Laboratório de Genética Celular e Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os microrganismos em questão correspondem ao *Lactococcus lactis* NCDO 2118, *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ 327, *Escherichia coli* CEC 15 (linhagem não patogênica) e *Saccharomyces boulardii*, sendo todos eles de ação probiótica já comprovada em camundongos, porém pouco ou ainda não avaliados para frangos de corte. Desta forma, justifica-se pesquisas que avaliem os efeitos dos probióticos no desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte quando são expostos ao calor.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Probióticos na avicultura

Os probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, que são capazes de proporcionar efeitos benéficos ao hospedeiro por meio do aumento do equilíbrio microbiano intestinal (FULLER, 1989). De forma mais recente, a instrução normativa N° 44 de 15/12/2015

define que probióticos são cepas de microrganismos vivos (viáveis), que agem como auxiliares na recomposição da microbiota do trato digestório dos animais, contribuindo para o seu equilíbrio (BRASIL, 2015). Estes microrganismos têm sido utilizados na nutrição de aves a bastante tempo, sendo uma das principais fontes alternativas ao uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho, a qual possui papel importante na mitigação de efeitos deletérios. Na avicultura uma cepa probiótica é desenvolvida com finalidade de melhorar o desempenho, saúde geral e a produtividade estando o animal em desafio ou não (WANG et al., 2016; ABDELQALDER et al., 2020; ARIF et al., 2021). Nesse aspecto e frente ao advento da modernização da manipulação genética, diversas empresas têm se concentrado na criação de microrganismos que apresentem características e mecanismos eficazes para uma possível substituição dos antimicrobianos, proporcionando o surgimento de novas cepas probióticas e a busca por pesquisas que objetivassem a elucidação dos mecanismos de ação desses aditivos em dietas para frangos de corte (LIU et al., 2020; OLADOKUN et al., 2021).

O conceito de exclusão competitiva tem sido amplamente utilizado para descrever a inabilidade de uma população de microrganismos de se estabelecer no intestino devido à presença de outra população. Petri (2000) descreve os cinco principais mecanismos de ação dos probióticos por exclusão competitiva como o Efeito Físico (barreira): as bactérias fixam-se à mucosa intestinal, formando uma barreira protetora que evita a adesão de bactérias enteropatogênicas; Efeito Biológico: as bactérias anaeróbias constituintes dos probióticos promovem ambiente de baixa tensão de oxigênio, inibindo o crescimento de enteropatógenos; Efeito Químico: a produção de ácidos orgânicos por bactérias causam redução do pH no intestino (ex. ácidos láctico e propiônico), desfavorecendo a colonização por microrganismos patogênicos; Efeito Bioquímico: produção de bacteriocinas; Efeito Nutricional: as bactérias do probiótico competem com os enteropatógenos por nutrientes, inibindo seu crescimento no intestino.

O trato gastrointestinal (TGI), é colonizado por diversos tipos de microrganismos, como bactérias, fungos e protozoários. Muitos deles vivem de maneira comensal no intestino, atuando de forma benéfica e podem auxiliar no processo digestivo e competir por sítios de ligação com patógenos. Para que a ave seja capaz de realizar de forma eficiente a digestão, absorção de nutrientes e defesa imunológica, o intestino deve estar em estado de eubiose que nada mais é do que a manutenção do equilíbrio entre os microrganismos presentes, que podem ser benéficos ou patogênicos. Caso a ave apresente um desequilíbrio, ou seja, uma disbiose intestinal pode resultar em mudanças no meio intestinal, e predispor o surgimento de doenças, infecções localizadas ou sistêmicas, necrose intestinal e formação de toxinas, diminuição da digestão e

absorção de nutrientes, pela colonização do intestino por microrganismos patogênicos, ou por bactérias oportunistas problemas estes que podem causar perdas na conversão alimentar e consequente prejuízos econômicos relevantes na produção de frangos de corte (MAIORKA, 2004). Assim, a manutenção de boa saúde do trato gastrointestinal (TGI) se faz necessária para regular e manter suas funções digestivas, absorptivas, metabólicas e endócrinas equilibradas de modo a beneficiar o hospedeiro (SVIHUS, 2014; PERRY, 2006; RONDÓN, 2019).

2.2 Estresse por calor na avicultura

Na produção avícola brasileira é possível observar que grande parte dos galpões possuem estruturas pouco tecnificadas devido ao alto custo de implantação das instalações com ambiente controlado. Isso indica que nem sempre as condições de conforto térmico são possíveis de serem atendidas durante todo o ciclo de produção, principalmente por se tratar de um país tropical e em grande parte do tempo apresentar temperaturas elevadas, ocasionando assim estresse por calor que pode prejudicar a fisiologia, imunologia, microbiologia e o bem-estar das aves (SUGIHARTO et al., 2017).

O estresse é uma resposta biológica adaptativa para restaurar a homeostase, sendo que o estresse térmico por calor é um dos desafios ambientais mais comuns para as aves (ROSTAGNO, 2020). As aves são animais homeotérmicos, cuja temperatura interna permanece constante, independente das variações de temperatura do meio externo. Esses animais em estado de estresse, embora sejam capazes de realizar ajustes fisiológicos e comportamentais, frequentemente exibem redução de desempenho zootécnico (MARCHINI, 2012).

A zona de conforto térmico para frangos de corte varia com a idade da ave, sendo que a temperatura ideal na primeira semana de vida varia de 32 a 35°C. Já na segunda semana é de 29 a 32°C. Posteriormente, há uma diminuição gradativa até a quinta semana estabilizando-se em 20°C (ABREU; ABREU, 2011). A maturação do sistema termorregulador das aves ocorre por volta de 10 a 15 dias de idade (FURLAN; MACARI, 2008), sendo que após esse período as aves tornam-se mais suscetíveis aos efeitos do estresse por calor. Em pesquisa realizada por Liu et al. (2020), foi observado em frangos de corte aclimatados durante três semanas, grupo controle normal (NC) ($22 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 h/dia) e grupo com estresse por calor ($32 \pm 1^\circ\text{C}$, 10 h/dia nas últimas 2 semanas), que o estresse por calor afetou a morfologia intestinal, induzindo o rompimento das células epiteliais, infiltração de células inflamatórias e edema da lâmina própria.

A incidência de altas temperaturas também provocam efeitos negativos na produção de frangos de corte como queda expressiva no consumo de alimentos (BOIAGO et al., 2013) e

aumento no consumo de água tornando as excretas e a cama mais úmidas, diminuição da taxa de crescimento, piora na conversão alimentar, aumento da morbidade e mortalidade das aves. Além disso, compromete o sistema imunológico (JIANG et al., 2020), eleva a produção de corticosterona e reduz a atividade de enzimas antioxidantes (SUGIHARTO et al., 2017). O estresse por calor também pode desencadear alterações na arquitetura intestinal como redução do número de vilos e menor taxa de proliferação dos enterócitos, afetando diretamente a digestão e absorção de nutrientes (MARCHINI, 2012). Desta forma, o estresse por calor é responsável por perdas econômicas no setor avícola, principalmente durante algumas estações do ano e em regiões mais quentes (MIGNON-GRASTEAU et al., 2015).

A administração de probióticos para frangos de corte pode diminuir os efeitos do estresse por calor, reduzindo a concentração de corticosterona circulante (SOHAIL et al., 2012). Embora os mecanismos pelos quais isso ocorre ainda não sejam completamente compreendidos, havendo uma ligação entre o microbioma intestinal, eixo hipotalâmico-hipofisário e o estresse (GAREAU et al., 2007; RHEE; POTHOUKAKIS; MAYER, 2009).

Pesquisas utilizando-se probióticos para frangos de corte relatam benefícios destes aditivos, como no estudo de Jahromi et al. (2016) em que a suplementação com uma mistura probiótica (*Lactobacillus pentosus* ITA23 e *Lactobacillus acidophilus* ITA44) nas dietas para frangos de corte submetidos à estresse por calor melhorou o ganho de peso médio diário das aves, a capacidade antioxidante do fígado, além de interferir positivamente na microbiota do ceco com aumento das bactérias benéficas e diminuição de *Escherichia. coli*. Em pesquisas realizadas por Ashraf et al. (2013) foi observado aumento na altura e na área de superfície das vilosidades do jejuno, além de maior número de células calciformes em frangos de corte expostos a estresse cíclico por calor por 8 h diárias (35°C, 75% UR) e alimentados com dieta contendo probióticos. Em pesquisa realizada por Song et al. (2014) e Abdelqader et al. (2020), com frangos de corte, expondo-os a estresse por calor foi observado que existe uma interação entre a dieta e temperatura, afetando o desempenho zootécnico. Os frangos que foram expostos ao estresse por calor apresentaram menor ganho de peso médio diário e consumo de ração médio diário, comparado às aves que foram mantidas em condições termoneutras. Quando as dietas continham probióticos houve efeito positivo sobre GP, CA e altura de vilosidades.

Dessa forma, a suplementação de probióticos na dieta de frangos de corte pode ser uma alternativa viável para a indústria avícola podendo melhorar a saúde, desempenho e o bem-estar das aves criadas em condições de estresse por calor.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), sob protocolo nº 006/2020.

3.1 Aves, delineamento e dietas experimentais

Os pintainhos de corte machos da linhagem Cobb-500 foram adquiridos com um dia de idade de incubatório comercial. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, sendo os blocos os lados direito e esquerdo do galpão. Oito dietas foram avaliadas em seis repetições (unidades experimentais; boxes constituídos de 2,0 x 1,5 m com piso coberto por maravalha) de 15 frangos cada, totalizando 48 unidades experimentais e 720 frangos no total. As dietas experimentais corresponderam a: T1 - dieta basal sem probiótico e antibiótico; T2 - dieta basal sem probiótico, porém suplementada com bacitracina de zinco (55 mg de princípio ativo/kg de ração); T3 - dieta basal suplementada com probiótico comercial de *Bacillus subtilis* DSM17299 (1×10^9 UFC/Kg de ração); T4, T5, T6 e T7 - dieta basal suplementada, respectivamente, com os probióticos não comerciais *Lactococcus lactis* NCDO 2118, *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ 327, *Escherichia coli* CEC 15 e *Saccharomyces boulardii* (cada um suplementado isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração) e T8 - dieta basal suplementada com a associação dos quatro probióticos de nova geração (T4 a T7; 1×10^9 UFC de cada probiótico/Kg de ração, totalizando 4×10^9 UFC/Kg de ração). A dieta basal foi à base de milho e farelo de soja, formulada de acordo com as recomendações nutricionais relatadas no manual da linhagem (COBB, 2018) para os períodos de 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade (TABELA 1). As dietas e a água foram fornecidas *ad libitum* aos frangos durante todo o período experimental (1 a 42 dias de idade).

Tabela 1- Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas basais fornecidas nas diferentes fases de criação dos frangos de corte.

Ingredientes	Período de criação dos frangos			
	1 a 7 dias	8 a 21 dias	22 a 35 dias	36 a 42 dias
Milho	56,260	61,455	62,482	64,515
Farelo de soja 45%	36,525	31,760	30,200	27,770
Óleo de soja	2,560	2,420	3,329	3,760
Calcário calcítico	0,820	0,775	0,710	0,720
Fosfato bicálcico 18,5%	1,875	1,750	1,545	1,560
Sal comum	0,470	0,450	0,457	0,455
DL-Metionina 99%	0,340	0,320	0,283	0,265
L- Lisina HCL 99%	0,240	0,200	0,174	0,185
L-Treonina 98,5%	0,110	0,070	0,020	0,020
Salinomicina	0,050	0,050	0,050	0,000
Cloreto de colina 60%	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix mineral ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Caulim (inerte) ³	0,500	0,500	0,500	0,500
Composição nutricional (%)				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2975	3025	3100	3150
Proteína bruta	21,491	19,660	18,952	18,007
Cálcio total	0,904	0,841	0,761	0,761
Fósforo disponível	0,450	0,421	0,381	0,380
Sódio total	0,200	0,191	0,194	0,193
Lisina digestível	1,222	1,121	1,022	0,972
Metionina + cisteína digestível	0,913	0,854	0,803	0,763
Treonina digestível	0,830	0,733	0,663	0,632
Triptofano digestível	0,242	0,218	0,210	0,197

¹Níveis por Kg de suplemento: ácido fólico (902,5 mg), ácido pantotênico (12,0 mg), biotina (77,0 mg), niacina (40,0 mg), selênio (349,6,0 mg), vitamina A (8.800.000,0 UI), vitamina B1 (2.499,0 mg), vitamina B12 (16.200,0 mcg), vitamina B2 (5.704,0 mg), vitamina B6 (3.998,4 mg), vitamina D3 (3.000.000,0 UI), vitamina E (30.000,0 UI), vitamina K3 (2.198,1 mg).

²Níveis por Kg de suplemento: cobre (7.000.000 mg), ferro (50,0 g), iodo (1.500,0 mg), manganês (67,5 g), zinco (45,6 g).

³As dietas experimentais contendo bacitracina de zinco (T2), probiótico comercial *Bacillus subtilis* DSM17299 (T3), probióticos avaliados individualmente (T4 a T7) e a associação de probióticos (T8) foram obtidas substituindo-se o caulim (inerte), conforme necessário, pelo respectivo aditivo. Portanto, as substituições do caulim corresponderam a: 0,37 g de bacitracina de zinco 15%/Kg de ração correspondendo a 55 mg de princípio ativo/Kg de ração (T2); 0,625 g do probiótico comercial (*Bacillus subtilis* DSM17299)/Kg de ração correspondendo a 1×10^9 UFC/Kg de ração (T4); 1 g dos probióticos não comerciais (*Lactococcus lactis* NCDO2118, *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ327, *Escherichia coli* CEC15 ou *Saccharomyces boulardii*)/Kg de ração correspondendo a 1×10^9 UFC/Kg ração (T4 a T7); 1 g de cada probiótico não comercial/Kg de ração correspondendo a 4×10^9 UFC/Kg ração (T8).

3.2 Instalações e condições experimentais

O experimento foi conduzido em galpão convencional para frangos de corte do Departamento de Zootecnia da UFLA. Cada box, com dimensões de 2,0 x 1,5 m, continha uma lâmpada incandescente para aquecimento, um alimentador tubular e um bebedouro tubular, e o piso era coberto com maravalha. Cada lado do galpão foi equipado com ventiladores. Nas laterais do galpão foram instaladas cortinas para controlar a ventilação e a incidência de luz solar. A umidade relativa média registrada no galpão durante todo o período experimental foi de $50,5 \pm 5,1\%$. O programa de luz utilizado foi de acordo com o recomendado pelo manual da linhagem (COBB, 2018) e consistiu em 1 h de escuridão (1 a 7 dias de idade), 8 h de escuridão (8 a 20 dias de idade), 7 h de escuridão (21 a 35 dias de idade) e 6 h de escuridão (36 a 42 dias de idade).

As temperaturas ambientes foram registradas a cada 30 min por sete sensores data logger (Onset, modelo HOB0), posicionados em altura compatível com a altura dos frangos e distribuídos três em cada lateral do galpão e um no corredor central do galpão. Durante todo o período experimental, as cortinas e lâmpadas de aquecimento foram manejadas de forma que a temperatura interna do galpão se mantivesse a mais alta possível entre 09:00 e 17:00 horas, mas sem ultrapassar a média de 32°C para o período (CHENG et al., 2019). Nas demais horas do dia (17h00 às 09h00), as cortinas, lâmpadas e ventiladores foram gerenciados para proporcionar temperaturas ambientes mais amenas.

De acordo com o manual da linhagem (COBB, 2018), as temperaturas de conforto térmico para frangos de corte em função da idade são 32°C de 1 a 3 dias, 30°C de 4 a 7 dias, 28°C de 8 a 14 dias, 25°C de 15 a 21 dias, 22°C de 22 a 35 dias e 20°C de 36 a 42 dias. Ao considerar as temperaturas registradas no galpão (TABELA 2), é possível observar que as

temperaturas médias foram inferiores aos valores de referência no período de 1 a 14 dias de idade dos frangos de corte. No entanto, é importante ressaltar que cada box continha uma lâmpada de aquecimento, que permaneceu acesa sempre que necessário, e que os sensores data logger não foram posicionados próximos às lâmpadas de aquecimento, para evitar interferência nos registros de temperatura. Assim, até os 14 dias de idade, não houve estresse por frio, pois os frangos utilizaram a fonte de aquecimento conforme necessário para sua termorregulação. Por outro lado, os frangos foram expostos ao estresse por calor dos 15 aos 42 dias de idade. Neste experimento, o desafio por calor foi estabelecido neste período por se tratar de uma fase crítica na indústria de frangos de corte, na qual ocorrem grandes perdas econômicas principalmente em regiões tropicais e subtropicais. A partir dos 15 dias de idade, os frangos de linhagem comercial são mais vulneráveis ao estresse por calor devido à alta produção metabólica de calor e sua capacidade reduzida de dissipar o excesso de calor corporal devido à cobertura de penas e glândulas sudoríparas limitadas (LIU et al., 2020). Além disso, a estimulação térmica do dias 15° ao 42° dia foi usada anteriormente como estressor ambiental para frangos de corte (MAHMOUD et al., 2015; MOHAMMED et al., 2018; JIANG et al., 2020).

3.3 Procedimentos experimentais e parâmetros avaliados

O desempenho dos frangos de corte foi determinado nos períodos de 1 a 7, 1 a 21, 1 a 35 e 1 a 42 dias de idade. No final de cada período, foi selecionado uma ave por unidade experimental de acordo com o peso médio da parcela (desvio padrão $\pm 3\%$), correspondendo a seis aves por tratamento. Os frangos selecionados foram abatidos por deslocamento cervical seguido de sangria, escaldados, depenados e eviscerados. Posteriormente, foi realizada a coleta de material para avaliação da histomorfometria do intestino (jejuno).

3.3.1 Desempenho dos frangos de corte

O consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA) dos frangos foram mensurados nos períodos de 1 a 7, 1 a 21, 1 a 35, e no período total de 1 a 42 dias de idade. O CR foi obtido pela diferença entre a quantidade de ração fornecida e as sobras no período. O GP foi calculado subtraindo o peso final pelo peso inicial dos frangos. A CA foi calculada dividindo-se o CR pelo GP dos frangos de cada unidade experimental. A mortalidade dos frangos foi registrada diariamente para as devidas correções dos resultados de desempenho zootécnico.

Tabela 2- Temperaturas registradas no galpão durante todo o período experimental.

Idade	Temperatura (°C) ¹			Temperatura (°C) ¹			Média diária calculada ²	Referência ³
	Entre 9:00 e 17:00			Entre 17:00 e 09:00				
	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima	Média		
1 a 3 dias	22,4	33,7	28,1	14,6	24,3	19,5	23,8	32,0
4 a 7 dias	23,9	33,8	28,8	16,8	25,5	21,1	25,0	30,0
8 a 14 dias	20,6	32,7	26,7	14,2	23,3	18,7	22,7	28,0
15 a 21 dias	26,8	33,4	30,1	16,1	26,0	21,0	25,6	25,0
22 a 35 dias	26,4	34,2	30,3	16,2	26,2	21,2	25,8	22,0
36 a 42 dias	25,3	33,9	29,6	17,2	26,5	21,8	25,7	20,0

¹ As temperaturas ambientes foram registradas a cada 30 min por sete sensores data logger (Onset, modelo HOB0), posicionados em altura compatível com a altura dos frangos e distribuídos três em cada lateral do galpão e um no corredor central do galpão.

² Média diária = (temperatura média entre 9h00 e 17h00 + temperatura média entre 17h00 e 9h00) dividida por 2.

³ De acordo com o manual da linhagem (COBB, 2018).

3.3.2 Histomorfometria intestinal

Aos 7, 21, 35 e 42 dias de idade dos frangos, fragmentos de aproximadamente 6 cm de comprimento de jejuno foram coletados, enrolados em forma de rocambole no sentido da porção proximal para a porção distal e transferidos para um pote coletor com tampa contendo solução de formol 10% tamponado, onde foram mantidas por no mínimo 48 horas até o processamento. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em uma série crescente de etanol, limpas com xileno e embebidas em blocos com parafina (RIBEIRO; GRÖTZNER; FILHO, 2012). Após a clivagem dos blocos, seções transversais de 5µm foram colocadas em uma lâmina de vidro e coradas com hematoxilina e eosina (HE) para a avaliação microscópica. Os campos histológicos foram observados utilizando-se microscópio óptico (Olympus CX31; objetiva de 4x) equipado com câmera digital (Olympus SC30) e acoplado ao sistema de aquisição de imagens (AnalySIS getIT). As imagens foram analisadas por meio do software Image J (versão 1.52a) com régua micrométrica calibrada, de forma a se medir um total de 15 unidades de vilosidades intactas e bem orientadas. Os seguintes parâmetros foram mensurados: altura da vilosidade (AV), desde a base até o ápice da vilosidade; largura da vilosidade (LV), aproximadamente no meio da vilosidade; profundidade da cripta intestinal (PC), da mucosa até a base da vilosidade; largura da cripta (LC) e altura da mucosa (AM), da muscular da mucosa até o ápice das vilosidades (FIGURA 1). A razão vilosidade/cripta (V/C) também foi calculada, dividindo a altura do vilosidade pela profundidade da cripta.

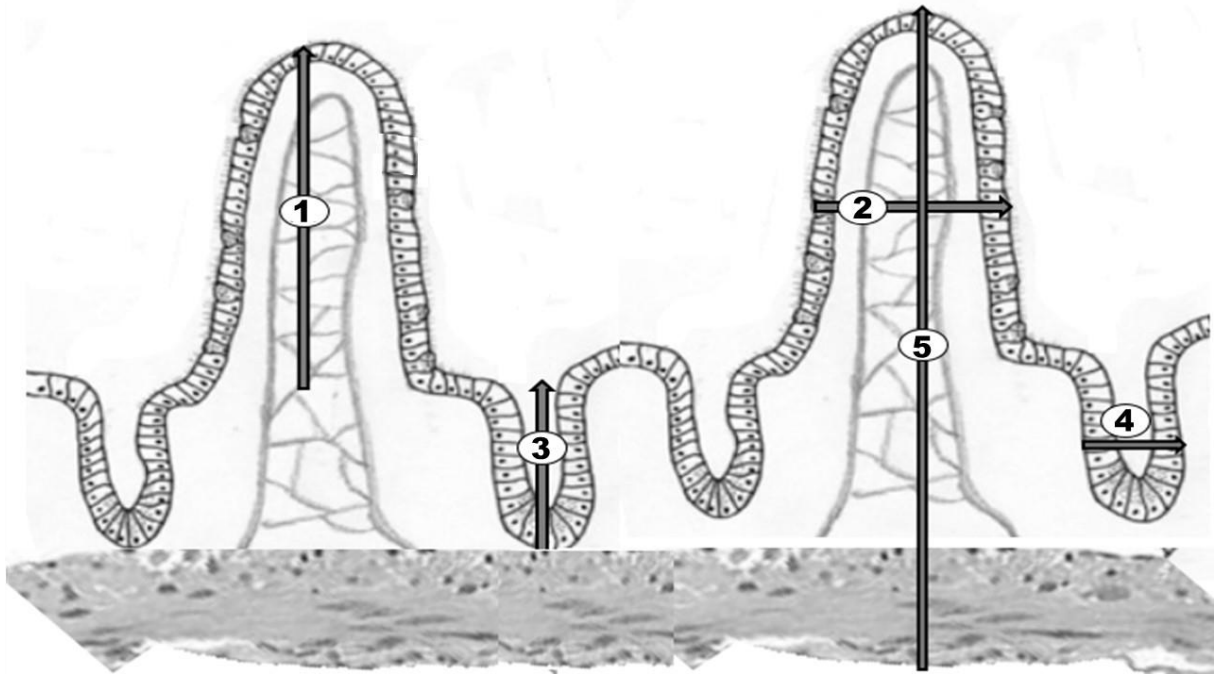
Além disso, a área de superfície das vilosidades (S) e a área de absorção intestinal (AA) foram calculadas utilizando-se as fórmulas descritas por Dong et al. (2014) e Kisielinsky et al. (2002), respectivamente:

$$S: \pi \frac{\text{Largura do vilosidade}}{2} \sqrt{\left(\frac{\text{Largura do vilosidade}}{2}\right)^2 + \text{Altura do vilosidade}^2}$$

$$AA: \frac{(\text{Largura do Vilosidade} \cdot \text{Altura do vilosidade}) + \left(\frac{\text{Largura do vilosidade}}{2} + \frac{\text{Largura da cripta}}{2}\right)^2 - \left(\frac{\text{Largura do vilosidade}}{2}\right)^2}{\left(\frac{\text{Largura do vilosidade}}{2} + \frac{\text{Largura da cripta}}{2}\right)}$$

Fonte: Dong et al. (2014); Kisielinsky et al. (2002).

Figura 1- Áreas de medidas de histomorfometria intestinal.



1- Altura do vilosidade; 2- Largura do vilosidade; 3- Profundidade de cripta; 4- Largura de cripta; 5- Altura vilosidade/mucosa.

Fonte: Adaptado de Santos (2020).

3.4 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se o software SAS®, submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativa, as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho produtivo dos frangos de corte nos diferentes períodos e, de acordo com os respectivos tratamentos estudados, estão apresentados na Tabela 3.

Na produção avícola, a busca por alternativas aos antibióticos é constante, visando aqueles que darão retornos econômicos. Parâmetros de desempenho incluindo GP, ganho de peso médio diário, consumo de ração médio diário e CA são as principais variáveis usadas para avaliar os retornos econômicos na produção de frangos de corte (Zhang et al., 2021). Nesta pesquisa, não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) para o CR, GP e CA frangos de corte

nos períodos de 1 a 7, 1 a 21, e 1 a 35 dias de idade (TABELA 3). Em pesquisa realizada por Arif et al. (2021), foram avaliadas quatro dietas, sendo dieta basal (DB), DB + *Bacillus licheniformis* (DSM17236), DB + *Bacillus subtilis* (PB6) e DB + Flavomicina (4%), durante um período de 35 dias com frangos Hubbard em condições de baixa biossegurança, foi observado que para os parâmetros zootécnicos de CR, GP e CA não houve diferença ($P < 0,05$) no período de 1 a 7 dias de idade. Além disso, nenhuma diferença foi observada para o CR em todo o período experimental. Contudo, o GP e CA, para o tratamento com DB + *Bacillus licheniformis* (DSM17236), foram melhores nos períodos de 21 e 35 dias de idade. Estas diferenças podem ter ocorrido devido aos desafios, tipo de cepas e suas respectivas concentrações, e linhagem diferente da utilizada na presente pesquisa. Em contrário a esta pesquisa, Cegiz et al. (2015) realizaram uma pesquisa com tratamento fatorial 2x2, sendo frangos da linhagem Ross 308 criados em alta (20 aves/m²) e baixa (10 aves/m²) densidade e dietas contendo ou não probióticos comercial (Primalac 454), observaram que não houve correlação entre o fatorial, mas foi possível observar maior GP e CR durante o período de 1 a 21 dias em frangos tratados com dietas contendo mix de probióticos.

Tabela 3- Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.

	Dietas basais (DB) ¹	DB + bacitracina de zinco ²	DB + <i>Bacillus</i> <i>subtilis</i> ³	DB + <i>Lactococcus</i> <i>lactis</i> ⁴	DB + <i>Lactobacillus</i> <i>delbrueckii</i> ⁴	DB + <i>Escherichia</i> <i>coli</i> ⁴	DB + <i>Saccharomyces</i> <i>boulardii</i> ⁴	DB + Blend de probióticos ⁵	SEM	P-value
1 a 7 dias										
CR	0,146	0,152	0,148	0,149	0,153	0,145	0,149	0,148	0,0025	0,2421
GP	0,139	0,142	0,148	0,144	0,144	0,139	0,147	0,145	0,0030	0,3258
CA	1,06	1,08	1,00	1,03	1,06	1,04	1,01	1,02	0,0206	0,0808
1 a 21 dias										
CR	1,240	1,254	1,235	1,232	1,245	1,222	1,243	1,238	0,0188	0,9664
GP	0,928	0,942	0,949	0,946	0,947	0,946	0,958	0,956	0,0118	0,7475
CA	1,34	1,33	1,30	1,31	1,32	1,29	1,30	1,29	0,0179	0,4751
1 a 35 dias										
CR	3,829	3,887	3,770	3,853	3,801	3,760	3,882	3,792	0,0510	0,4895
GP	2,562	2,641	2,597	2,608	2,591	2,606	2,628	2,612	0,0378	0,8998
CA	1,50	1,47	1,45	1,48	1,47	1,44	1,48	1,45	0,0166	0,4037
1 a 42 dias										
CR	5,453	5,563	5,337	5,421	5,391	5,401	5,537	5,362	0,0685	0,2391
GP	3,222 b	3,558 a	3,513 a	3,470 a	3,473 a	3,496 a	3,584 a	3,495 a	0,0338	<0,0001
CA	1,70 a	1,56 b	1,52 b	1,56 b	1,55 b	1,54 b	1,55 b	1,54 b	0,0140	<0,0001

¹DB: dietas basais sem probiótico e sem bacitracina de zinco, formuladas de acordo com as recomendações nutricionais da linhagem Cobb-500 e fornecidas aos frangos nos períodos de 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade.

²Bacitracina de zinco 15% adicionada na ração na quantidade de 0,37 g/kg correspondendo a 55 mg de princípio ativo/Kg de ração.

³Probiótico comercial suplementado isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁴Probióticos não comerciais suplementados isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁵Associação dos probióticos *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Escherichia coli* e *Saccharomyces boulardii* (1×10^9 UFC de cada probiótico/Kg de ração, totalizando 4×10^9 UFC/Kg de ração).

^{a,b}Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

No período de 1 a 42 dias de idade não houve diferença ($P > 0,05$) no CR pelos frangos de corte, sendo observado o consumo médio entre os tratamentos de 5,433 kg de ração/frango (TABELA 3). Contudo, os frangos criados em condição de estresse por calor e alimentados com ração sem bacitracina de zinco e sem probiótico exibiram menor ($P < 0,05$) GP, além de pior ($P < 0,05$) CA. Todas as dietas contendo probióticos, suplementados isoladamente ou de maneira associada, resultaram em GP e CA semelhantes aos resultados observados para os frangos que receberam a dieta basal suplementada com antibiótico ou a dieta basal suplementada com o probiótico comercial de *Bacillus subtilis*. Estes resultados podem ter ocorrido devido ao estresse por calor mais intenso e maior dificuldade dos frangos em dissipar calor na fase final de criação, comprovando efeitos benéficos dos probióticos. Segundo Wang et al. (2016), que ao realizar uma pesquisa com frangos da linhagem Ross 708 durante um período de 41 dias de idade, observaram que não houve diferença ($P < 0,05$) para o CR no período de 1 a 41 dias. Entretanto, os frangos alimentados com dietas que continham apenas *Bacillus subtilis* e, prebiótico (Mananoligossacarídeos e β -glucanos,) + *Bacillus subtilis* (Pre+Pro) apresentaram maior GP. Em partes, estes resultados estão de acordo com a presente pesquisa.

Os resultados de histomorfometria dos frangos de corte aos 7 dias de idade, estão apresentados na Tabela 4. Para os parâmetros de histomorfometria do jejuno não houve diferença significativa ($P > 0,05$) aos 7 dias de idade. Em pesquisa realizada por Martins (2015), foi avaliado o efeito de inoculação *in ovo* e pulverizado ao nascimento com probiótico comercial contendo 21 cepas. Os tratamentos foram T1 (controle): pintos provenientes de ovos vacinados *in ovo* no 18º dia de incubação contra a doença de Marek; T2: pintos provenientes de ovos inoculados com probiótico no 18º dia de incubação utilizando como diluente a vacina de Marek; T3: pintos provenientes de ovos vacinados *in ovo* no 18º dia de incubação contra a doença de Marek e pulverizados ao nascimento com solução contendo probiótico (o mesmo utilizado para a inoculação *in ovo*). Não foi observado diferença ($P > 0,05$) na histomorfometria da mucosa dos diferentes segmentos (duodeno, jejuno e íleo) com o uso de probiótico nas diferentes fases estudadas (nascimento, 7, 21, 35 e 42 dias de idade) mesmo para aqueles que foram desafiados com *Salmonella enteritidis* (1 a 35 dias de idade). De maneira semelhante Mezalira et al. (2014) ao avaliar os parâmetros histomorfométricos (altura de vilo e profundidade de cripta), também evidenciaram que não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos nos segmentos do intestino delgado (duodeno e jejuno) de pintos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com probiótico (*Lactobacillus spp.*) e/ou prebiótico (β -glucano) no período de 1 a 7 dias de idade.

Tabela 4- Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.

	AV	LV	PC	LC	AM	VC	S	AA
Dietas basais (DB) ¹	219,941	26,122	33,088	19,937	349,410	6,721	0,050	0,265
DB + bacitracina de zinco ²	205,695	28,436	32,353	19,934	323,474	6,502	0,043	0,258
DB + <i>Bacillus subtilis</i> ³	212,160	26,911	34,730	18,601	343,305	6,119	0,046	0,266
DB + <i>Lactococcus lactis</i> ⁴	192,985	28,789	31,865	20,125	308,428	6,101	0,039	0,244
DB + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ⁴	217,192	29,443	37,175	21,086	359,776	6,079	0,049	0,272
DB + <i>Escherichia coli</i> ⁴	212,771	30,112	36,052	20,793	338,735	6,039	0,047	0,268
DB + <i>Saccharomyces boulardii</i> ⁴	199,554	26,423	32,445	21,059	316,132	6,307	0,041	0,240
DB + Blend de probióticos ⁵	190,668	28,223	32,886	20,440	299,115	5,809	0,038	0,237
SEM	11,5762	1,3838	2,4641	1,3560	18,3402	0,3973	0,0049	0,015
P-value	0,5130	0,3898	0,7363	0,6320	0,2553	0,8085	0,5565	0,5794

AV: altura da vilosidade; LV: largura da vilosidade; PC: profundidade da cripta; LC: largura da cripta; AM: altura da mucosa; V/C: relação vilo/cripta; S: área de superfície das vilosidades; AA: área de absorção intestinal.

¹DB: dietas basais sem probiótico e sem bacitracina de zinco, formuladas de acordo com as recomendações nutricionais da linhagem Cobb-500 e fornecidas aos frangos nos períodos de 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade.

²Bacitracina de zinco 15% adicionada na ração na quantidade de 0,37 g/kg correspondendo a 55 mg de princípio ativo/Kg de ração.

³Probiótico comercial suplementado isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁴Probióticos de nova geração suplementados isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁵Associação dos probióticos *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Escherichia coli* e *Saccharomyces boulardii* (1×10^9 UFC de cada probiótico/Kg de ração, totalizando 4×10^9 UFC/Kg de ração).

Os resultados de histomorfometria dos frangos de corte aos 21 dias de idade, estão apresentados na Tabela 5. Não houve diferença ($P > 0,05$) para os parâmetros de histomorfometria do jejuno aos 21 dias de idade. Estes resultados estão de acordo com os dados encontrados por Ramos et al. (2011), que ao estudarem dietas contendo colistina + bacitracina de zinco, prebiótico (MOS), mix de probióticos de forma isolada e, a associação entre Pre + Pro, observaram que não houve diferença ($P > 0,05$) para os parâmetros de altura de vilos, profundidade de cripta e perímetro de vilos no jejuno aos 21 dias de idade.

Os resultados de histomorfometria dos frangos de corte aos 35 dias de idade, estão apresentados na Tabela 6. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para os parâmetros de histomorfometria do jejuno aos 35 dias de idade. Em pesquisa realizada por Liu et al. (2020) utilizando frangos de corte da linhagem Arbor Acres durante 35 dias de idade com dietas isonutritivas, mas com tratamentos grupos controle ($22 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 h/dia) e grupo em estresse por calor ($32 \pm 1^\circ\text{C}$, 10 h/dia nas últimas 2 semanas), foi observado que o estresse por calor não afetou a histomorfometria do jejuno, resultados que corroboram com os resultados obtidos na presente pesquisa.

Os resultados de histomorfometria dos frangos de corte aos 42 dias de idade, estão apresentados na Tabela 7. Os tratamentos avaliados não influenciaram ($P > 0,05$) nenhum dos parâmetros histomorfométricos do jejuno dos frangos aos 42 dias de idade. Em pesquisas realizadas com dietas que continham ou não probióticos, nenhum dos tratamentos fez efeito sobre os parâmetros de histomorfometria do jejuno aos 42 dias de idade, resultados estes que corroboram com esta pesquisa (SHARGH et al., 2012; Wang et al., 2016; HE et al., 2019). Em contrário Song et al. (2014), observaram que frangos aos 42 dias de idade em estresse por calor apresentaram ($P < 0,05$) vilosidades mais curtas, maior profundidade de criptas e menor ($P < 0,05$) altura das vilosidades em relação à profundidade das criptas do que aqueles na zona termoneutra. Além disso, aves alimentadas com dietas contendo mix de probióticos apresentaram maior altura de vilosidades do que aquelas alimentadas com dieta basal. Em pesquisas realizadas por Li et al. (2020), observaram que frangos da linhagem Arbor Acres quando submetidos a estresse por calor apresentaram aos 42 dias de idade redução no comprimento de vilos e relação vilos/cripta de jejuno quando comparado aos frangos mantidos em condições de estresse por calor e com dietas contendo mix de probióticos comercialmente denominado RUYIRUYI, que apresentaram resultados semelhantes ao tratamento que estava em condições termoneutras e alimentados com DB, resultados contrários aos observados a esta pesquisa.

Tabela 5- Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.

	AV	LV	PC	LC	AM	VC	S	AA
Dietas basais (DB) ¹	369,811	34,571	46,456	23,750	580,975	8,275	0,139	0,451
DB + bacitracina de zinco ²	374,492	36,868	46,080	24,248	600,491	8,260	0,155	0,464
DB + <i>Bacillus subtilis</i> ³	380,073	36,600	53,404	22,748	614,806	7,083	0,154	0,485
DB + <i>Lactococcus lactis</i> ⁴	347,686	35,881	42,190	24,415	493,435	8,798	0,122	0,432
DB + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ⁴	362,804	41,041	47,489	26,351	564,432	7,729	0,136	0,462
DB + <i>Escherichia coli</i> ⁴	348,258	33,247	48,059	22,182	548,267	7,497	0,126	0,433
DB + <i>Saccharomyces boulardii</i> ⁴	386,554	34,880	49,497	23,938	624,681	7,832	0,154	0,476
DB + Blend de probióticos ⁵	375,201	35,231	44,711	23,713	574,849	8,603	0,150	0,468
SEM	32,5189	2,5340	4,4658	1,4934	44,5290	0,7524	0,0251	0,0377
P-value	0,9856	0,5571	0,5812	0,6822	0,5309	0,7599	0,9613	0,9668

AV: altura da vilosidade; LV: largura da vilosidade; PC: profundidade da cripta; LC: largura da cripta; AM: altura da mucosa; V/C: relação vilo/cripta; S: área de superfície das vilosidades; AA: área de absorção intestinal.

¹DB: dietas basais sem probiótico e sem bacitracina de zinco, formuladas de acordo com as recomendações nutricionais da linhagem Cobb-500 e fornecidas aos frangos nos períodos de 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade.

²Bacitracina de zinco 15% adicionada na ração na quantidade de 0,37 g/kg correspondendo a 55 mg de princípio ativo/Kg de ração.

³Probiótico comercial suplementado isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁴Probióticos de nova geração suplementados isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁵Associação dos probióticos *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Escherichia coli* e *Saccharomyces boulardii* (1×10^9 UFC de cada probiótico/Kg de ração, totalizando 4×10^9 UFC/Kg de ração).

Tabela 6- Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.

	AV	LV	PC	LC	AM	VC	S	AA
Dietas basais (DB) ¹	433,489	32,979	41,086	23,601	620,881	10,904	0,194	0,523
DB + bacitracina de zinco ²	454,658	34,109	40,170	23,078	650,333	11,480	0,210	0,557
DB + <i>Bacillus subtilis</i> ³	419,985	38,883	37,621	25,874	584,444	11,262	0,179	0,525
DB + <i>Lactococcus lactis</i> ⁴	443,468	37,428	38,141	26,368	606,422	11,799	0,204	0,539
DB + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ⁴	439,041	36,270	38,837	24,838	626,706	11,603	0,197	0,537
DB + <i>Escherichia coli</i> ⁴	374,909	39,086	37,803	25,635	506,773	10,018	0,143	0,472
DB + <i>Saccharomyces boulardii</i> ⁴	471,962	37,391	40,586	25,446	646,332	11,959	0,237	0,579
DB + Blend de probióticos ⁵	451,598	37,578	37,803	24,600	609,306	12,393	0,206	0,564
SEM	26,8029	2,0346	3,1879	0,9107	37,0643	0,9229	0,0255	0,0318
P-value	0,3354	0,3599	0,9851	0,1775	0,1911	0,7392	0,3684	0,2791

AV: altura da vilosidade; LV: largura da vilosidade; PC: profundidade da cripta; LC: largura da cripta; AM: altura da mucosa; V/C: relação vilo/cripta; S: área de superfície das vilosidades; AA: área de absorção intestinal.

¹DB: dietas basais sem probiótico e sem bacitracina de zinco, formuladas de acordo com as recomendações nutricionais da linhagem Cobb-500 e fornecidas aos frangos nos períodos de 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade.

²Bacitracina de zinco 15% adicionada na ração na quantidade de 0,37 g/kg correspondendo a 55 mg de princípio ativo/Kg de ração.

³Probiótico comercial suplementado isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁴Probióticos de nova geração suplementados isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁵Associação dos probióticos *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Escherichia coli* e *Saccharomyces boulardii* (1×10^9 UFC de cada probiótico/Kg de ração, totalizando 4×10^9 UFC/Kg de ração).

Tabela 7- Histomorfometria do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com dietas contendo probióticos e expostos a estresse por calor a partir de 15 dias de idade.

	AV	LV	PC	LC	AM	VC	S	AA
Dietas basais (DB) ¹	517,584	38,116	40,856	27,553	722,124	12,875	0,273	0,621
DB + bacitracina de zinco ²	444,247	37,525	36,056	23,720	633,688	12,556	0,200	0,563
DB + <i>Bacillus subtilis</i> ³	517,627	41,463	38,708	25,336	714,794	13,654	0,275	0,664
DB + <i>Lactococcus lactis</i> ⁴	388,027	43,208	37,173	24,058	587,346	10,837	0,155	0,518
DB + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ⁴	395,076	39,146	34,986	22,079	576,730	11,372	0,161	0,519
DB + <i>Escherichia coli</i> ⁴	486,376	44,530	40,152	25,097	707,807	12,339	0,248	0,636
DB + <i>Saccharomyces boulardii</i> ⁴	486,377	39,224	34,406	25,830	640,975	14,218	0,249	0,606
DB + Blend de probióticos ⁵	496,022	38,066	41,802	26,927	689,668	11,956	0,254	0,602
SEM	32,7516	2,8725	3,3990	1,3360	53,6579	0,7936	0,0337	0,0432
P-value	0,0529	0,5748	0,6006	0,0762	0,1790	0,0811	0,0567	0,1899

AV: altura da vilosidade; LV: largura da vilosidade; PC: profundidade da cripta; LC: largura da cripta; AM: altura da mucosa; V/C: relação vilo/cripta; S: área de superfície das vilosidades; AA: área de absorção intestinal.

¹DB: dietas basais sem probiótico e sem bacitracina de zinco, formuladas de acordo com as recomendações nutricionais da linhagem Cobb-500 e fornecidas aos frangos nos períodos de 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade.

²Bacitracina de zinco 15% adicionada na ração na quantidade de 0,37 g/kg correspondendo a 55 mg de princípio ativo/Kg de ração.

³Probiótico comercial suplementado isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁴Probióticos de nova geração suplementados isoladamente na concentração de 1×10^9 UFC/Kg de ração.

⁵Associação dos probióticos *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Escherichia coli* e *Saccharomyces boulardii* (1×10^9 UFC de cada probiótico/Kg de ração, totalizando 4×10^9 UFC/Kg de ração).

A variação nos efeitos dos probióticos de diferentes estudos pode ser em função aos diversos desafios aplicados, diferenças dos microrganismos e suas cepas, composição, fontes, dosagem na dieta e estabilidade de probióticos utilizados, bem como a duração e intensidade do estresse por calor.

5 CONCLUSÕES

A utilização de probióticos na dieta de forma isolada ou associada, proporcionaram melhor desempenho zootécnico e sem efeito sobre a histomorfometria do jejuno de frangos de corte expostos a estresse por calor a partir dos 15 dias de idade, durante o período total de 1 a 42 dias de idade.

A escolha do probiótico deve considerar seus os aspectos intrínsecos, como disponibilidade, estabilidade, dosagem, e aquele que possibilitar menor custo de inclusão da ração.

REFERÊNCIAS

- ABDELQADER, A., et al. Probiotic bacteria maintain normal growth mechanisms of heat stressed broiler chickens. **Journal of Thermal Biology**, v. 92, 2020.
- ABREU, V. M. N.; ABREU, P. G. Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 256, p.1-14, 2011.
- ARIF, M. et al. Dietary supplementation of *Bacillus*-based probiotics on the growth performance, gut morphology, intestinal microbiota and immune response in low biosecurity broiler chickens. **Veterinary and Animal Science**, v. 14, p. 1-8, 2021.
- ASHRAF, S. et al. Effect of dietary supplementation of prebiotics and probiotics on intestinal microarchitecture in broilers reared under cyclic heat stress. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. 1, p. 68-73, 2013.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual 2021**. São Paulo, 2021. 75 p. Disponível em: <http://abpa-br.org/abpa-lanca-relatorio-anual-2021/>. Acesso em: 8 jan. 2022.
- BOIAGO, M. M. et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes fontes de selênio, zinco e manganês, criados sob condições de estresse térmico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 1, p. 241-247, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 44, de 15 de dezembro de 2015**. Altera a Instrução Normativa SARC nº 13 de 2004 e Instruções Normativas MAPA nºs 15 e 30 de 2009 e 29 de 2010.
- CENGIZ, O. et al. Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. **Poultry Science**, v. 94, p. 2395-2403, 2015.
- CHENG, Y. F. et al. Dietary mannan oligosaccharide ameliorates cyclic heat stress-induced damages on intestinal oxidative status and barrier integrity of broilers. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4767-4776, 2019.
- COBB VANTRESS. **Broiler Management Guide**. 112 p, 2018.
- CRAMER, T. A. et al. Effects of probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on meat quality characteristics of breast muscle from broilers exposed to chronic heat stress. **Poultry Science**, v. 97, p. 3358-3368, 2018.
- DONG L. et al. Intrauterine growth restriction impairs small intestinal mucosal immunity in neonatal piglets. **Journal Histochemistry and Cytochemistry**, v.62, n. 7, p. 510-518, 2014.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal Applied of Poultry Research**, v. 66, p. 365-378, 1989.
- FURLAN, R. L.; MACARI, M. Termorregulação. In: Macari, M.; Furlan R.L.; Gonzales, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2ed. Jaboticabal: Funesp, p.209-230, 2008.
- GAREAU, M. G. et al. Probiotic treatment of rat pups normalises corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation. **Gut**, v. 56, n. 11, p. 1522-1528, 2007.

GREENE, E. S.; RAJAEI-SHARIFABADI, H.; DRIDI, S. Feather HSP70: a novel non-invasive molecular marker for monitoring stress induced by heat exposure in broilers. **Poultry Science**, v. 98, n. 9, p. 3400-3404, 2019.

HE, T. et al. Effects of Probiotics as Antibiotics Substitutes on Growth Performance, Serum Biochemical Parameters, Intestinal Morphology, and Barrier Function of Broilers. **Animals**, 9, 985, doi:10.3390/ani9110985. 2019.

JAHROMI, M. F. et al. Dietary supplementation of a mixture of Lactobacillus strains enhances performance of broiler chickens raised under heat stress conditions. **International Journal of Biometeorology**, v. 60, n7, p. 1099-1110, 2016.

JIANG, S. et al. Effect of symbiotic on thyroid hormones, intestinal histomorphology, and heat shock protein 70 expression in broiler chickens reared under cyclic heat stress. **Poultry Science**, v. 99, n. 1, p. 142-150, 2020.

KISIELINSKI, K. et al. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 2, n. 3, p. 131-135, 2002.

LI, Q. et al. Effect of probiotic supplementation on growth performance, intestinal morphology, barrier integrity, and inflammatory response in broilers subjected to cyclic heat stress. **Animal Science Journal**, 91:e13433. 2020.

LIU, L. et al. Heat stress impacts on broiler performance: a systematic review and meta-analysis. **Poultry Science**, v. 99, n. 11, p. 6205-6211, 2020.

MAHMOUD, U. T. et al. Behavioral changes and feathering score in heat stressed broiler chickens fed diets containing different levels of propolis. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 166, p. 98-105, 2015.

MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **In: Anais do V Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Chapecó - Santa Catarina, Brasil, p. 26-41, 2004.

MARCHINI, C. F. P. **Desempenho, alterações ósseas e intestinais de frangos de corte submetidos ao estresse cíclico por calor**. 2012. 110 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal - Produção Animal) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

MARTINS, B. B. **Efeito na inoculação de probiótico in ovo sobre a morfometria intestinal e controle de Salmonella enteritidis**. 2015. 94 f. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós graduação em Zootecnia) – Faculdade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.

MEZALIRA, T.S. et al. Morfometria do intestino delgado de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com probiótico e/ou prebiótico. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p. 2012246, 2014.

MIGNON-GRASTEAU, S. et al. Robustness to chronic heat stress in laying hens: a meta-analysis. **Poultry Science**, v. 94, n. 4, p. 586-600, 2015.

MOHAMMED, A. A. et al. Effect of dietary synbiotic supplement on behavioral patterns and growth performance of broiler chickens reared under heat stress. **Poultry Science**, v. 97, p. 1101-1108, 2018.

OLADOKUN, S. et al. Bacillus subtilis delivery route: effect on growth performance, intestinal morphology, cecal short-chain fatty acid concentration, and cecal microbiota in broiler chickens, **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p. 1-15, 2021.

- PERRY, G. C. **Avian gut function in health and disease**. University of Bristol, UK, 2006. 384 p.
- PETRI, R. **Uso de exclusão competitiva na avicultura no Brasil**. II Simpósio de sanidade avícola. Santa Maria, Rio Grande do Sul, set. 2000.
- RAMOS, L. S. N. et al. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. **R. Bras. Zootec.**, v.40, n.8, p. 1738-1744, 2011.
- REHMAN, A. et al. Dietary effect of probiotics and prebiotics on broiler performance, carcass, and immunity. **Poultry Science**, v. 99, n. 12, p. 6946-6953, 2020.
- RHEE, S. H.; POTHOUKAKIS, C.; MAYER, E. A. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. **Nature reviews. Gastroenterology & Hepatology**, v. 6, n. 5, p. 306-314, 2009.
- RIBEIRO, C. A. O.; GRÖTZNER, S. R.; FILHO, H. S. R. **Técnicas e Métodos para Utilização Prática em Microscopia**: Editora Santos, 2012. 420 p., n.1.
- RONDÓN, E. O. O. Holistic view of intestinal health in poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 250, p. 1-8, 2019.
- ROSTAGNO, M. H. Effects of heat stress on the gut health of poultry. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 4, p 1-9, 2020.
- SANTOS, T. G. **Implicações da restrição intrauterina de crescimento sobre o desenvolvimento pós-natal em suínos (Sus scrofa): uma investigação sobre o perfil metabólico e aspectos morfofuncionais do intestino delgado**. 2020. 95 f. Tese (Doutorado em Programa de Pós graduação em Biologia Celular) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2020.
- SHARGH, M. S. et al. Effects of using plant extracts and probiotic on performance, intestinal morphology, and microflora population in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 2, p. 201-208, 2012.
- SOHAIL, M. U. et al. Effect of supplementation of prebiotic mannan-oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. **Poultry Science**, v. 91, n. 9, p. 2235-2240, 2012.
- SONG, J. et al. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 581-588, 2014.
- SOOMRO, R. N. et al. Impact of restricting feed and probiotic supplementation on growth performance, mortality and carcass traits of meat-type quails. **Anim. Sci. Journal**, v. 90, p. 1388-1395, 2019.
- SUGIHARTO, S. et al. Dietary supplementation of probiotics in poultry exposed to heat stress - a review. **Annals of Animal Science**, v. 17, n. 3, p. 591-604, 2017.
- SVIHUS, B. Function of the digestive system. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, n. 2, p.306-314, 2014.
- WANG, X. et al. Effects of prebiotics, probiotics, and their combination on growth performance, small intestine morphology, and resident *Lactobacillus* of male broilers. **Poultry Science**, v. 95, n. 6, p. 1332-1340, 2016.

ZHANG, S. et al. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* promotes growth performance of broilers by altering the dominant microbial community. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, artigo 100935, 2021.