Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Diferentes estratégias do uso de sorgo para frangos de corte: desempenho e saúde intestinal

Naiara Simarro Fagundes

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2016

Naiara Simarro Fagundes
Médica Veterinária

Diferentes estratégias do uso de sorgo para frangos de corte: desempenho e saúde intestinal

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ FERNANDO MACHADO MENTEN**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Fagundes, Naiara Simarro
Diferentes estratégias do uso de sorgo para frangos de corte: desempenho e saúde intestinal / Naiara Simarro Fagundes. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
156 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1.Nutrição 2.Tamanho de partícula 3. EMA 4. Flora intestinal 5. Gene 16S I. Título

CDD 636.513
F156d

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedico aos meus amados pais Nerlito (in memorian) e Marilene.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde e por iluminar meus caminhos.

À minha mãe Marilene por todo incentivo, carinho e dedicação em todos os momentos.

Às minhas irmãs Nadia, Núbia e Natália pelo precioso carinho, auxílio e apoio.

Aos meus sobrinhos Isabela, Artur, Henrique e Heitor pelo carinho incondicional.

Ao meu namorado Fábio por todo carinho, cuidado e atenção, por me auxiliar durante o experimento e por me apoiar, compreender e motivar em todos os momentos deste doutorado.

Ao meu amado pai Nerlito, por sempre me apoiar e acreditar nos meus objetivos e que mesmo distante sei que nos momentos difíceis esteve ao meu lado me dando forças para continuar.

Ao meu querido orientador José Fernando Machado Menten pelo incentivo, apoio e exemplo.

Ao meu orientador do Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) Samuel Aggrey pelo conhecimento compartilhado e pela oportunidade de participar de suas pesquisas.

A todos os professores que contribuíram para minha formação durante o doutorado, em especial ao professor Valdomiro Shigueru Miyada.

Aos professores da banca de qualificação e da banca de defesa, pelas contribuições.

Aos amigos Cristiano, Gláucia, Jaqueline, José Guilherme, Maria e Rafaela pela preciosa ajuda durante o experimento e à Diana, Kelen e Natália Milani pelo apoio nesta fase final.

Aos funcionários do Setor de Não Ruminantes pela dedicação na criação dos animais.

Aos meus amigos de Pós-graduação pela companhia.

Às minhas amigas Rafaela Migliavacca e Walquiria por alegrarem a nossa casa e os meus dias.

À Cássia, Francisco e Fernando por me receberem de braços abertos.

A todos os meus familiares e amigos pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

Aos laboratórios de Genética e Microbiologia dos Solos da ESALQ/USP e ao Laboratório de Ensino em Histologia, Biologia Celular e Embriologia do ICBIM/UFU pela estrutura física e técnica para a realização das análises laboratoriais.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, ao Departamento de Zootecnia e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens pela oportunidade de realização deste doutorado.

Ao Departamento de Avicultura da Universidade da Geórgia nos Estados Unidos pela oportunidade de realização do doutorado sanduíche.

À CAPES e CNPq pela concessão inicial de bolsa de doutorado.

À FAPESP pelo auxílio financeiro para execução do experimento (Proc. N. 2014/01161-0), pela bolsa de doutorado (Proc. N. 2013/00701-9) e pela bolsa de estágio no exterior - BEPE (Proc. N. 2015/00656-9).

Enfim, a todos que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

NAIARA SIMARRO FAGUNDES – Uberlândia, 04 de março de 1986. Médica Veterinária graduada pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia no segundo semestre de 2008. Especialista em Ciência Avícola do V Curso de Especialização em Ciência Avícola Turma 2009/2010 da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. Em 2011, obteve o título de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Produção Animal na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. No ano de 2012, ingressou no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, onde atualmente é doutoranda na linha de pesquisa de Produção de Monogástricos e Aquicultura. Em 2015, foi pesquisadora visitante no Departamento de Avicultura da Universidade da Geórgia, EUA.

“Para os crentes, Deus está no princípio das coisas.
Para os cientistas, no final de toda reflexão. ”

Max Planck

SUMÁRIO

RESUMO.....15
ABSTRACT.....17
LISTA DE FIGURAS.....19
LISTA DE TABELAS.....21
1 INTRODUÇÃO.....27
1.1 Objetivo.....28
1.2 Revisão Bibliográfica.....28
1.2.1 Grão de sorgo.....28
1.2.1.1 Morfologia e estrutura do grão.....28
1.2.1.2 Tanino.....29
1.2.1.3 Valor nutricional.....30
1.2.2 Sorgo em dietas de frangos de corte.....32
1.2.2.1 Desempenho.....32
1.2.2.2 Trato gastrintestinal.....34
1.2.2.3 Morfometria do epitélio jejunal.....36
1.2.2.4 Metabolizabilidade do grão e das dietas.....38
1.2.2.5 Microbiota.....40
Referências.....44
2 SUBSTITUIÇÃO TOTAL DO MILHO POR SORGO ALTERA A MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE SEM ALTERAR O DESEMPENHO.....57
Resumo.....57
Abstract.....57
2.1 Introdução.....58
2.2 Material e Métodos.....59
2.2.1 Criação das aves.....59
2.2.2 Dietas experimentais.....60
2.2.3 Avaliação do desempenho.....60
2.2.4 Avaliação do epitélio jejunal.....60
2.2.5 Avaliação da microbiota intestinal.....65
2.2.5.1 Coleta das amostras.....65
2.2.5.2 Filtragem do conteúdo do intestino delgado e preparo das amostras.....65
2.2.5.3 Extração do DNA bacteriano.....66

2.2.5.4 Amplificação e sequenciamento do gene 16S rRNA 67
2.2.5.5 Bioinformática 68
2.2.6 Ensaio de metabolizabilidade 68
2.2.7 Análise estatística 69
2.3 Resultados e Discussão 69
2.3.1 As diferentes estratégias de substituição do milho pelo sorgo não influenciaram o desempenho e a mucosa intestinal dos frangos de corte nem a metabolizabilidade das rações 69
2.3.2 A substituição de milho por sorgo em suas diferentes estratégias é capaz de alterar a microbiota intestinal de frangos de corte 74
2.4 Conclusões 92
Referências 92
3 SORGO INTEIRO EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE REDUZ O GÊNERO *Clostridium* NO INTESTINO DELGADO SEM ALTERAR O DESEMPENHO 97
Resumo 97
Abstract 97
3.1 Introdução 98
3.2 Material e Métodos 99
3.2.1 Criação das aves 99
3.2.2 Dietas experimentais 100
3.2.3 Avaliação do desempenho 102
3.2.4 Avaliação do trato gastrintestinal 102
3.2.5 Avaliação da microbiota intestinal 103
3.2.6 Ensaio de metabolizabilidade 103
3.2.7 Análise estatística 103
3.3 Resultados 104
3.3.1 Desempenho 104
3.3.2 Trato gastrintestinal 109
3.3.3 Metabolizabilidade das dietas 109
3.3.4 Microbiota do intestino delgado 112
3.3.4.1 Filo 112
3.3.4.2 Classe 112
3.3.4.3 Ordem 114
3.3.4.4 Família 116

3.3.4.5 Gênero 118
3.3.5 Microbiota dos cecos.....125
3.3.5.1 Filo.....125
3.3.5.2 Classe 125
3.3.5.3 Ordem 125
3.3.5.4 Família.....128
3.3.5.5 Gênero 130
3.4 Discussões.....135
3.4.1 A utilização de sorgo inteiro a partir de 8 dias de idade não prejudica o desempenho de frangos de corte aos 40 dias de idade, além de proporcionar aumento na EMA, EMAn e CMMS das rações.....135
3.4.2 O uso de sorgo inteiro em rações de frangos de corte altera a microbiota intestinal, especialmente pela diminuição da porcentagem do gênero *Clostridium* no intestino delgado 142
3.5 Conclusões.....148
Referências 149

RESUMO

Diferentes estratégias do uso de sorgo para frangos de corte: desempenho e saúde intestinal

O objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho, saúde intestinal e metabolizabilidade de dietas para frangos de corte alimentados com o uso contínuo ou mudança brusca de diferentes rações à base de milho e sorgo moído ou inteiro. No Exp. 1 foi estudada a mudança no tipo de grão com as dietas: M100% (ração à base de milho); S100% (ração à base de sorgo); M:S50% (ração à base de 50% milho e 50% sorgo); PS-M (ração à base de sorgo na fase pré-inicial e milho nas demais fases); PM-S (ração à base de milho na fase pré-inicial e sorgo nas demais fases). No Exp. 2 foi estudada a mudança na forma do grão de sorgo: Sm100% (ração à base de sorgo moído); Si100% (ação à base de sorgo inteiro); PSm-Si (ração à base de sorgo moído na fase pré-inicial e inteiro nas demais fases) e PSi-Sm (ração à base de sorgo inteiro na fase pré-inicial e moído nas demais fases). Os experimentos foram conduzidos em um delineamento em blocos casualizados (blocos no tempo) para avaliar o desempenho e epitélio jejunal (r=8), microbiota intestinal (r=4) e metabolizabilidade das dietas (r=10). As mudanças entre milho e sorgo não alteraram o desempenho, epitélio jejunal nem a metabolizabilidade das rações, mas influenciaram a porcentagem de *Clostridium*, *Weissella, Bacillus* e *Alkaliphilus* no intestino delgado e *Lactobacillus* e *Desulfotomaculum* nos cecos. O uso de sorgo inteiro piorou o desempenho aos sete dias. Aos 40 dias, Sm100% e PSm-Si apresentaram desempenhos semelhantes, PSi-Sm apresentou menor ganho de peso, mas melhor conversão alimentar e Si100% apresentou o pior desempenho. Si100% e PSm-Si apresentaram aumento no peso relativo da moela e na metabolizabilidade das rações, assim como diminuição de *Clostridium* e aumento de bactérias das famílias Actinomycetales e Bacillales no intestino delgado, Si100% resultou em menor porcentagem de *Alkaliphilus* e *Enterococcus* que Sm100% nos cecos. Conclui-se que a melhor estratégia de uso do sorgo é a substituição total de milho por sorgo moído ao alojamento com posterior mudança para sorgo inteiro, pois não afeta o desempenho e epitélio jejunal das aves, melhora a metabolizabilidade das rações e potencializa a redução de *Clostridium* no intestino delgado de frangos de corte.

Palavras-chave: Nutrição; Tamanho de partícula; EMA; Flora intestinal; Gene 16S

ABSTRACT

Different strategies of using of sorghum for broilers: performance and intestinal health

The aim of this study was to evaluate performance, intestinal health and metabolizability of diets in broilers fed different corn- or sorghum (ground or whole)-based diets, continuously or with abrupt change between the diets. Exp. 1 - Change in the type of grain: C100% (corn-based diet); S100% (sorghum-based diet); C:S50% (50% corn and 50% sorghum-based diet); PC-S (corn-based diet in pre-starter phase and sorghum-based diet in other phases); PS-C (sorghum-based diet in pre-starter phase and corn-based diet in other phases). Exp. 2 - Change in the form of sorghum grain: Gs100% (ground sorghum-based diet); Ws100% (whole sorghum-based diet); PGs-Ws (ground sorghum-based diet in pre-starter phase and whole sorghum-based diet in other phases); PWs-Gs (whole sorghum-based diet in pre-starter phase and ground sorghum-based diet in other phases). Experiments were conducted in a randomized block design for to evaluate performance and jejunal epithelium (r=8), intestinal microbiota (r=4) and metabolizabilty of diets (r=10). The changes between corn and sorghum did not affect performance, jejunal epithelium or metabolizability of the diets, but influenced the genera *Clostridium*, *Weissella, Bacillus* and *Alkaliphilus* in the small intestine, and *Lactobacillus* and *Desulfotomaculum* in the caecum. Whole sorghum resulted in decreased performance at seven days of age. At 40 days, Gs100% and PGs-Ws showed similar performance, PWs-Gs showed lower weight gain and the best feed conversion rate, and Ws100% showed the worst performance. Ws100% and PGs-Ws resulted in the biggest gizzard relative weight and the highest diet metabolizability values, as well as the lowest level of *Clostridium* and highest level of Actinomycetales and Bacillales in the small intestine. Ws100% showed lower level of *Alkaliphilus* and *Enterococcus* than Gs100% in the caecum. The best strategy to use sorghum in broilers diets is replacing 100% of corn for ground sorghum since the first day followed by change to whole sorghum, because this diet did not affect performance or jejunal epithelium, improved diet metabolizability values, and reduced *Clostridium* in the small intestine of broilers.

Keywords: Nutrition; Milo; Particle size; AME; Intestinal flora; 16S gene

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização do terço médio do vilo em aumento de 100 vezes (A) e posterior contagem de células caliciformes (seta vermelha) em aumento de 400 vezes (B) no jejuno de frangos de corte aos 10 dias de idade...64
Figura 2 - Estrutura da coluna de filtragem utilizada para filtrar o conteúdo do intestino delgado de frangos de corte 65
Figura 3 - Pigmentação das canelas (A) e bicos (B) de frangos de corte alimentados com M100% e S100%.....72
Figura 4 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias do intestino delgado de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de milho e/ou sorgo 83
Figura 5 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias cecais de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de milho e/ou sorgo.....91
Figura 6 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias do intestino delgado de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de moído e/ou inteiro.....124
Figura 7 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias dos cecos de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de moído e/ou inteiro.....134
Figura 8 - Conteúdo luminal do inglúvio (A) e da moela (B) de pintainhos alimentados com ração à base de sorgo inteiro, um dia após o alojamento.....136
Figura 9 - Presença de sorgo inteiro no lúmen intestinal de pintainhos alimentados com sorgo inteiro, aos três dias de idade.....138
Figura 10 - Ração à base de sorgo inteiro como oferecida e sobra no comedouro após ingestão seletiva das rações por frangos de corte aos 10 dias de idade alimentados com as dietas PSm-Si e Si100%.....139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição nutricional calculada das rações experimentais pré-inicial e inicial para frangos de corte 62
Tabela 2 - Ingredientes e composição nutricional calculada das rações experimentais crescimento e final para frangos de corte 63
Tabela 3 - Desempenho de pintainhos de um a 7 dias de idade alimentados com ração a base de milho, sorgo ou 50% milho e 50% sorgo (Milho:Sorgo) 70
Tabela 4 - Desempenho de pintainhos de oito a 10 dias de idade alimentados com as dietas experimentais 70
Tabela 5 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) semanais de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais 71
Tabela 6 - Altura (A), largura (L) e número de células caliciformes (CC) dos vilos, profundidade (P) da cripta, relação vilo:cripta e área de absorção do jejuno de frangos de corte alimentados com milho e/ou sorgo aos 10 dias 73
Tabela 7 - Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMMS), na base seca, das dietas experimentais para frangos de corte nos períodos de oito a 12 dias e 17 a 21 dias 74
Tabela 8 - Porcentagem dos principais filos de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade 75
Tabela 9 - Porcentagem das principais classes de bactérias presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade 75
Tabela 10 - Porcentagem das principais ordens de bactérias presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade 77

Tabela 11 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem da ordem Turicibacterales presente no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade.... 77
Tabela 12 - Porcentagem das principais famílias de bactérias presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade 78
Tabela 13 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem da família Peptostreptococcaceae presente no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade.....78
Tabela 14 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias encontrados no intestino delgado de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade 81
Tabela 15 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem do gênero *Alkaliphilus* presente no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade..... 81
Tabela 16 - Porcentagem dos principais filos de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade 85
Tabela 17 - Porcentagem das principais classes de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade..... 85
Tabela 18 - Porcentagem das principais ordens de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade 86
Tabela 19 - Porcentagem das principais famílias de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade..... 86
Tabela 20 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade..... 88
Tabela 21 - Ingredientes e composição nutricional calculada das rações experimentais pré-inicial, inicial, crescimento e final para frangos de corte..... 101

Tabela 22 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de pintainhos de 1 a 7 dias de idade alimentados com ração a base de sorgo moído ou inteiro 104
Tabela 23 - Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de pintainhos de 8 a 10 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro.....105
Tabela 24 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 14 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro.....106
Tabela 25 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro.....106
Tabela 26 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 28 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro.....107
Tabela 27 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro.....108
Tabela 28 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro.....109
Tabela 29 - Morfometria e contagem de células caliciformes no jejuno de frangos de corte aos 10 dias de idade, alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro 110
Tabela 30 - Pesos absolutos e relativos da moela e de sua membrana em frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro 110
Tabela 31 - Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMMS) das diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro para frangos de corte nos períodos de 8 a 12 dias e 17 a 21 dias de idade, com base na matéria seca.....111

Tabela 32 - Porcentagem dos principais filos de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 113
Tabela 33 - Porcentagem das principais classes de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 113
Tabela 34 - Porcentagem das principais ordens de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 115
Tabela 35 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem das ordens Lactobacillales, Bacillales e Turicibacterales presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 115
Tabela 36 - Porcentagem das principais famílias de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 117
Tabela 37 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem das famílias de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 117
Tabela 38 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 119
Tabela 39 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem dos gêneros de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade..... 120
Tabela 40 - Porcentagem dos principais filos de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 126
Tabela 41 - Porcentagem das principais classes de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 126

Tabela 42 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a classe Gammaproteobacteria dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade.....126
Tabela 43 - Porcentagem das principais ordens de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade.....127
Tabela 44 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a ordem Enterobacteriales dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade.....127
Tabela 45 - Porcentagem das principais famílias de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 129
Tabela 46 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para famílias de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 129
Tabela 47 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 131
Tabela 48 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para gêneros de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade 132

1 INTRODUÇÃO

O sorgo é uma gramínea de origem africana de nome científico *Sorghum bicolor* (L.) Moench, sendo o quinto cereal mais produzido no mundo (TAYLOR; SHEWRY, 2006). O Brasil está entre os dez maiores produtores mundiais deste, ocupando o décimo lugar na safra de 2014/2015, com uma produção de cerca de 2.000 mil toneladas, ficando atrás apenas dos EUA, Nigéria, Sudão, México, Índia, Etiópia, Argentina, China e Austrália (ESTADOS UNIDOS, 2016). O sorgo pode ser utilizado na alimentação humana, produção de combustíveis e forragens, além de poder ser utilizado em rações animais (RAO et al., 2013), sendo um importante substituto do milho em rações de frangos de corte em função de seu preço.

Os estudos mostram que a substituição é viável, inclusive na forma de grão inteiro, a partir de um dia de idade (CARVALHO et al., 2015; FERNANDES et al., 2013; TORRES et al., 2013). Porém, esta substituição ainda é vista com certa resistência, principalmente logo após o alojamento, devido à possível presença de tanino condensado, um fator antinutricional. Por isso, é comum que o sorgo seja fornecido para as aves após os primeiros dias de alojamento, recebendo inicialmente rações à base de milho. Quando a utilização do sorgo é adotada desde o alojamento, a utilização de sorgo inteiro a partir do alojamento é evitada, recebendo as aves rações à base de sorgo moído nos primeiros dias e posteriormente rações a base de sorgo inteiro. Em outros casos, a participação do sorgo nas rações está muito mais ligada à real disponibilidade do produto e por quanto tempo os estoques do grão poderão ser uma estratégia de economia nos custos de produção. Neste caso, além de lotes que poderão receber rações iniciais à base de milho, mudando posteriormente para sorgo, também poderá ter aves que receberão ração inicial com sorgo e posteriormente com milho.

Diversos estudos comprovam que o tipo e a forma do alimento ingerido podem influenciar tanto no desempenho do animal, quanto em sua saúde intestinal (CARVALHO et al., 2015; JACOBS; PARSONS, 2013). Por esse motivo, são necessários estudos que avaliem como a mudança entre o uso do grão de milho e sorgo nas rações de frangos de corte, bem como a utilização de grão de sorgo inteiro ou moído, possam influenciar o trato gastrointestinal destes animais e, consequentemente, seu desempenho, visto que essas mudanças na alimentação das aves são adotadas sem maiores cuidados pela indústria avícola.

1.1 Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho, moela, morfometria e número de células caliciformes do jejuno, metabolizabilidade das dietas e microbiota do intestino delgado e cecos de frangos de corte submetidos a diferentes combinações do uso de milho e sorgo nas rações, bem como o uso de grãos inteiros de sorgo para frangos de corte.

1.2 Revisão Bibliográfica

1.2.1 Grão de sorgo

1.2.1.1 Morfologia e estrutura do grão

O grão de sorgo é composto por três partes principais, endosperma, gérmen e pericarpo e tecidos associados, representando 82%, 10% e 8% do grão, respectivamente (HUBBARD et al., 1950). O endosperma é divido em três diferentes regiões, sendo a camada mais externa um epitélio simples rico em óleo e proteína (camada de aleurona), seguida pelo endosperma vítreo e pelo endosperma farináceo, ambos preenchidos com grânulos de amido envoltos por matriz proteica, além de corpos proteicos presentes principalmente próximos à aleurona (WALL; BLESSIN, 1969). Cerca de 70% a 80% das proteínas presentes no endosperma é constituída por cafirina, a qual é dividida nas subclasses α, β e γ (HAMAKER et al., 1995). A α-cafirina compreende 80% do total da cafirina e é facilmente digestível, porém está circundada por proteínas β- e γ-cafirina ligadas por pontes dissulfeto, o que prejudica o acesso das enzimas à α-cafirina, dificultando a sua digestão (DUODU et al., 2003; SHEWRY, 2002,). A cafirina é uma proteína de baixo valor nutricional, pois possui em sua composição baixos níveis de aminoácidos essenciais, e é proporcionalmente maior entre as demais proteínas do endosperma em variedades de sorgo com maior nível de proteína bruta (WALL; BLESSIN, 1969).

A textura ou dureza do endosperma é uma característica importante do grão de sorgo, sendo a proporção da fração vítrea (dura) do endosperma com a respectiva fração farinácea (macia) do mesmo (HALLGREN; MURTY, 1983). A diferença na textura dos endospermas se deve principalmente a existência de ar no espaço intergranular do endosperma farináceo, estando estes espaços ausentes no endosperma vítreo, resultando em uma forte adesão entre as proteínas e o amido

(HOSENEY et al., 1974). Outra diferença encontrada entre os endospermas de diferentes durezas é o maior nível de proteína, cafirina e proteína insolúvel, além de maior nível de ligações cruzadas de proteínas, encontrados no endosperma vítreo em comparação ao farináceo (IOERGER et al., 2007). O amido no endosperma vítreo encontra-se incrustado em forte arcabouço proteico, o qual precisa ser previamente digerido para que os grânulos de amido se tornem disponíveis para digestão enzimática (ROONEY; MILLER, 1982; SULLINS; ROONEY, 1975).

Outra característica importante do endosperma do sorgo é a presença do gene recessivo waxy (wx), podendo este ter os seguintes genótipos: waxy (wxwxwx), heterowaxy (WxWxwx ou Wxwxwx) e não waxy ou normal (WxWxWx) (LICHTENWALNER et al., 1978). O fenótipo waxy é associado ao endosperma que contém pouca ou nenhuma amilose, tendo os demais sorgos aproximadamente 30% de amilose e 70% de amilopectina, sendo estes os dois principais polímeros do amido (NEUCERE; SUMRELL, 1980; PEDERSEN et al., 2005). A amilose é um polímero essencialmente linear com ligações α-1,4, enquanto a amilopectina possui ramificações devido a existência de ligações α-1,6, proporcionando maior digestibilidade (GALLANT et al., 1992; TESTER et al., 2004). Os grãos waxy possuem endosperma periférico menos denso, com menos proteína e grânulos de amido maiores, enquanto os grãos sem esse fenótipo possuem pequenos grânulos de amido embebidos em uma matriz proteica densa na área periférica do endosperma (SULLINS; RONNEY, 1975).

1.2.1.2 Tanino

O tanino é um polifenol que pode ser dividido em dois tipos, taninos hidrolisáveis e taninos condensados (protoantocianidina), sendo que em grãos nativos de sorgo os taninos são quase que exclusivamente do tipo condensado (AWIKA; ROONEY, 2004; MANGAN, 1988). O tanino condensado é o principal fator antinutricional do sorgo, entretanto, este está presente em apenas alguns cultivares, representando 1% do sorgo produzido nos EUA, por exemplo (AWIKA; ROONEY, 2004). Os taninos condensados quando presentes diminuem o consumo de alimento, formam complexos com proteínas diminuindo sua digestibilidade, inibem a atividade de enzimas digestivas, aumentam a secreção de proteína endógena, impactam negativamente na função do trato gastrintestinal, além da toxicidade da absorção de taninos e seus metabolitos, diminuindo assim o desempenho do animal

(PRICE; BUTLER, 1980; TANDIANG et al.; 2014; WAGHORN, 1996). A presença deste polifenol específico no grão depende de sua genética, estando o tanino condensado presente apenas em grãos que expressam ambos os genes dominantes B1 e B2 (complementares), sendo que a presença adicional do gene S é responsável pela presença do tanino condensado no pericarpo (DYKES et al., 2005). No passado, os grãos de sorgo eram classificados em Tipo I, II e III, representando baixos, médios e elevados teores de tanino, mas atualmente estes são classificados como grãos com ou sem tanino, considerando a presença de taninos acima de 0,70% de fenóis totais (MAGALHÃES et al., 2013). Em estudo realizado com 36 variedades de sorgo do Iran, apenas duas variedades apresentavam valores acima de 0,70%, ou seja, 95% das variedades eram sem tanino (SEDGHI et al., 2011).

1.2.1.3 Valor nutricional

O sorgo é um ingrediente energético nas formulações para frangos de corte, sendo utilizado em substituição ao milho, apresentando composição na matéria natural similar, como apresentado por Rostagno et al. (2011). Comparando os valores de energia metabolizável para aves, o sorgo possui menor valor (3.189 Kcal/Kg) em comparação ao milho (3.381 Kcal/Kg), representando 94,32% do valor de energia metabolizável do milho. O menor valor de energia é devido, provavelmente, ao menor nível de gordura do sorgo, tendo quase 1% a menos de gordura digestível para aves que o milho (2,52% e 3,36%). Além de fonte de energia, esses grãos contribuem entre 20 a 30% no nível proteico da ração. Ao contrário do conteúdo energético, o sorgo apresenta cerca de 1% a mais de proteína bruta digestível para aves que o milho, 7,89% e 6,86% respectivamente. Porém, mesmo tendo maior teor de proteína, esta é de menor qualidade, pois o perfil de aminoácidos do sorgo é diferente do milho, aumentando a necessidade de inclusão de aminoácidos sintéticos na ração. Ao compararmos o sorgo com o milho, o primeiro apresenta apenas 89,47% do conteúdo de lisina digestível (0,17% e 0,19%, respectivamente), 86,67% da metionina digestível (0,13% e 0,15%, respectivamente), 89,65% de metionina + cistina digestíveis (0,26% e 0,29%, respectivamente) e 92,59% de treonina digestível (0,25% e 0,27%, respectivamente) do milho. Outra diferença existente entre estes grãos é o nível de pigmentos carotenoides, apresentando o sorgo níveis menores de carotenos (0,3 ppm sorgo e 2,0 ppm milho) e de xantofilas (1,8 ppm sorgo e 20,1 ppm milho), sendo o primeiro

percursor de vitamina A e o segundo responsável pela coloração amarelada da pele das aves (BLESSIN, 1962).

A composição nutricional pode ter grande variabilidade entre os diferentes cultivares de sorgo. Um experimento avaliou a composição na base seca de 36 variedades de sorgo cultivadas no Iran e encontrou valores de proteína bruta entre 10,42 e 14,88%, extrato etéreo entre 1.52 e 6,28%, fibra bruta entre 1,50 e 7,80%, matéria mineral entre 1,00 e 3,49% e energia metabolizável verdadeira corrigida para nitrogênio entre 3.003 e 3.899 Kcal/Kg (SEDGHI et al., 2011). Devido a esta grande variação, a análise bromatológica se torna essencial para o conhecimento da composição do grão e correto ajuste do seu valor nutricional, possibilitando assim o sucesso de sua utilização na formulação de rações para aves. A literatura disponibiliza fórmulas para cálculo da energia metabolizável dos alimentos para frangos de corte com base nos valores de proteína, extrato etéreo e extrativo não nitrogenado, além de equação para estimar o conteúdo dos aminoácidos em função da proteína bruta do sorgo (ROSTAGNO, 2011).

Em relação à digestibilidade do amido, além de ser inversamente proporcional ao conteúdo de amilose, também é inversamente proporcional ao conteúdo de cafirina, presente em maior quantidade em grãos com endosperma de textura vítrea, o qual envolve os grânulos de amido (CAGAMPANG; KIRLEIS, 1984; ELKIN et al., 1996). A menor qualidade da proteína do sorgo é proporcional à maior quantidade de cafirina, devido ao seu baixo valor nutricional, pois é pobre em aminoácidos essenciais (lisina, triptofano, treonina e metionina), mas rica em ácido glutâmico, prolina e isoleucina (VIRUPAKSHA; SASTRY, 1968). O perfil lipídico do grão de sorgo é composto de 82% de ácidos graxos insaturados, principalmente linoleico (40,3%) e oleico (36,5%), e 18% de ácidos graxos saturados, principalmente palmítico (13,0%) (NEUCERE; SUMRELL, 1980).

Por meio de cruzamento de linhagens, pesquisas buscam o desenvolvimento de variedades de sorgo que reúnam boas características agronômicas e maior qualidade nutricional. Variedade de sorgo transgênico com alta digestibilidade proteica foi produzido pela supressão de três genes que alteraram as ligações entre as cafirinas e, consequentemente a microestrutura do corpo proteico, produzindo invaginações irregulares que facilitam o acesso da pepsina, aumentando a digestibilidade proteica (GROOTBOOM et al., 2014). Por meio do cruzamento entre variedades de endosperma duro, variedades de boa qualidade nutricional e

variedade mutante de sorgo com alta digestibilidade de proteína e alto conteúdo de lisina, foi identificado fenótipo de grão de sorgo com endosperma de textura normal a vítrea e com superior qualidade nutricional devido à alta digestibilidade proteica e superior conteúdo de lisina, tendo estes grãos microestrutura diferenciada do endosperma vítreo (TESSO et al., 2006).

1.2.2 Sorgo em dietas de frangos de corte

1.2.2.1 Desempenho

Pesquisas têm encontrado resultados variados em relação à substituição total de sorgo por milho, sendo sugerido o nível prático de inclusão de 30% de sorgo sem tanino na ração (ROSTAGNO et al., 2011). Entretanto, se a ração for corretamente balanceada de acordo com o grão de sorgo utilizado, a substituição total de milho por sorgo não prejudica o desempenho dos frangos de corte (CARVALHO et al., 2015; FERNANDES et al., 2013; GARCIA et al., 2005; SHAKOURI et al., 2009; TANDIANG et al., 2014; TORRES et al., 2013). Porém, uma pesquisa apontou piora na conversão alimentar pela substituição total de milho por sorgo (LUNEDO et al., 2014). Aves alimentadas com sorgo apresentaram menor quantidade de gordura abdominal podendo resultar em um maior rendimento de carcaça, trazendo ganhos para a indústria de carnes avícolas (ADAMU et al., 2012). Porém em outros estudos, o efeito na diminuição de gordura abdominal não foi observado, assim como diferenças no rendimento de carcaça e de cortes, mas observou-se diminuição no pH do peito e pernas (CAROLINO et al., 2014; GARCIA et al., 2005; TORRES, 2010). Devido a menor quantidade de carotenóides no sorgo, sua utilização produziu carne de coloração mais fraca, porém sem alterar a composição química da carne de peito e pernas ou carcaça nem as características sensoriais da carne, exceto na mastigabilidade, a qual mostrou maior satisfação dos provadores (CAROLINO et al., 2014; GARCIA et al., 2005).

A utilização do grão de sorgo inteiro na alimentação de frangos de corte tem sido estudada, entretanto, nem sempre a literatura mostra resultados similares. Estudo mostra que a substituição total ou em 50% de sorgo moído por sorgo inteiro aos oito dias de idade não alterou o desempenho de frangos de corte machos e fêmeas os 42 dias de idade (FERNANDES et al., 2013). Porém, a substituição total a partir de 10 dias de idade reduziu o peso vivo e piorou a conversão alimentar aos 35 dias (RODGERS et al., 2009). Em outro estudo, foi observado menor consumo de

ração, mesmo peso vivo e melhor conversão alimentar em frangos de corte aos 42 dias alimentados com sorgo inteiro a partir do alojamento (CARVALHO et al., 2015). Por outro lado, a substituição de 10 e 20% de milho por sorgo inteiro a partir do alojamento diminuiu o ganho de peso e piorou a conversão alimentar de frangos de corte de cruzamento híbrido aos 21 dias de idade, porém, este efeito não foi observado em linhagem de frango comercial (BIGGS; PARSONS, 2009). Entretanto, a substituição total de milho por sorgo inteiro a partir do alojamento resultou em maior consumo de ração e pior conversão alimentar aos 21 dias de idade (JACOBS; PARSONS, 2013). A utilização de 100% sorgo inteiro a partir do alojamento não mostrou influência sobre o peso vivo, composição química da carcaça nem rendimento de cortes, mas observou-se menor rendimento de carcaça e maior rendimento de vísceras (CAROLINO et al., 2014).

A maioria dos estudos que avaliam a inclusão de grãos inteiros tem sido feita utilizando trigo, apresentando resultados que variam de piora até melhora do desempenho com o uso de grão inteiro. A substituição de 50% de milho por trigo inteiro diminuiu o ganho de peso e piorou a conversão alimentar em frangos de cruzamento híbrido aos 21 dias de idade, mas a substituição de 35% não alterou o desempenho em frangos de linhagem comercial na mesma idade (BIGGS; PARSONS, 2009). Porém, a substituição de 16% de trigo moído por inteiro em dietas peletizadas a partir do alojamento piorou a conversão alimentar de frangos de linhagem comercial aos 21 dias de idade, mas com o aumento da substituição para 30% a partir desta idade o pior desempenho foi superado aos 35 dias (AMERAH et al., 2011). Em estudo com a substituição de 30% por trigo inteiro já desde o alojamento, o desempenho não foi influenciado aos 21 dias de idade (AMERAH et al., 2009). Porém, aves alimentadas com grandes quantidades de grãos inteiros (trigo, cevada ou aveia) apresentaram desempenho inferior, podendo a redução no consumo ser causada pela limitada capacidade para moagem dos grãos na moela, seguido de taxa de passagem mais lenta no trato digestivo, ou mesmo pela sensação de saciedade provocada pela alta atividade da moela (HETLAND et al., 2002). Do mesmo modo, a moagem dos grãos pela moela requer energia, diminuindo consequentemente a energia disponível para o crescimento das aves em dietas de grão inteiro (HETLAND et al., 2002).

Existem diferentes maneiras de oferecer o grão inteiro para as aves, podendo este estar misturado à ração farelada ou ser incluído antes da peletização, ou

mesmo ser oferecido de maneira separada dos demais ingredientes. Estudo avaliou o desempenho de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com níveis crescentes de substituição do trigo moído por inteiro a partir de oito dias de idade, utilizando os seguintes métodos de alimentação: ração apenas com trigo moído, mistura do trigo inteiro na ração, escolha livre entre o grão inteiro e os demais componentes da ração oferecidos separadamente, mas simultaneamente, ou oferecidos separadamente em horários distintos (ERENER et al., 2003). Como resultado, aves alimentadas com a mistura entre os grãos apresentaram menor ganho de peso e pior conversão alimentar que aquelas aves que não receberam trigo inteiro, tendo os demais métodos de alimentação desempenhos semelhantes à não utilização de trigo inteiro. Essa diferença no desempenho ocorreu, pois, aves alimentadas com a mistura ingeriram maior quantidade trigo inteiro e menor quantidade dos demais componentes do que os outros métodos. Entretanto, outro estudo mostrou efeito contrário, sendo o desempenho de frangos alimentados com a mistura entre trigo inteiro e os demais componentes da ração igual ao daqueles que receberam apenas trigo moído, sendo que o oferecimento do grão inteiro separadamente prejudicou o desempenho devido à menor ingestão de proteína e energia (AMERAH; RAVINDRAN, 2008). Aparentemente, o desempenho de frangos de corte alimentados com grãos inteiros na dieta pode ser influenciado por fatores como tipo de grão, porcentagem de substituição do grão, idade ao iniciar a substituição, assim como linhagem da ave. Porém, é importante salientar que a inclusão de grãos inteiros na dieta pode estar relacionada com a melhora na eficiência da utilização de nutrientes (HETLAND et al., 2002).

1.2.2.2 Trato gastrintestinal

No sistema digestório das aves, o bico, a língua, a faringe e o esôfago são responsáveis pela apreensão do alimento, deglutição e encaminhamento deste para o inglúvio, onde o mesmo é armazenado e amolecido. O proventrículo é responsável pelo início da digestão química do alimento pela secreção de ácido clorídrico e pepsinogênio (STURKIE, 1991). Porém, a maior parte da digestão ácida ocorre na moela, onde o alimento é triturado e homogeneizado por meio de contrações rítmicas, passando o alimento para o duodeno apenas quando este encontra-se com partículas preferencialmente entre 0,5 e 1,5 mm (FERRANDO et al., 1987; TURK, 1982;). No intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) são liberados os sais biliares

produzidos pelo fígado que auxiliam na emulsificação das gorduras facilitando sua digestão, assim como são liberadas as enzimas produzidas pelo pâncreas que irão atuar na digestão dos alimentos. Entretanto, a finalização da digestão do alimento e absorção de nutrientes ocorre apenas na superfície da mucosa epitelial, sendo fundamental a integridade de suas células para a correta absorção de nutrientes (CASTRO, 2005). Nos cecos, ocorre a absorção de água e a digestão de aminoácidos remanescentes pela microbiota (CHAPLIN, 1989; MORTENSEN, 1984; TURK, 1982). Portanto, para um ótimo aproveitamento do alimento pelo animal, é necessário que o trato gastrointestinal esteja bem desenvolvido e funcionando de maneira eficiente.

A substituição total de milho por sorgo moído não alterou o peso do proventrículo, moela, intestino delgado e cecos nem o comprimento destes segmentos intestinais (FERNANDES al., 2013; GARCIA et al., 2005; SILVA et al., 2014). Porém, outro estudo observou diminuição do peso relativo do fígado e do jejuno, mas sem alterações nos demais segmentos intestinais (SILVA et al., 2015). Do mesmo modo, o pH da digesta na moela, íleo e cecos e a viscosidade da digesta ileal não diferiram em aves mais velhas com a substituição do milho por sorgo, exceto pela diminuição da viscosidade do conteúdo ileal aos sete dias de idade com o uso de sorgo (SHAKOURI et al., 2009; TORRES, 2010). Não foram observadas alterações na altura e largura de vilos, profundidade de cripta nem na área de absorção do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos aos sete dias e de frangos aos 42 dias de idade (SILVA et al., 2014, 2015).

De acordo com literatura, o trato gastrintestinal de frangos de corte praticamente não se altera quando o milho é substituído por sorgo moído. Entretanto, a substituição do sorgo moído por inteiro causa importantes alterações. A substituição total ou parcial (50%) do sorgo moído por inteiro a partir do alojamento proporcionou em pintainhos de sete e 42 dias de idade aumento da moela, mas sem interferir no peso e tamanho relativos do duodeno, jejuno, íleo e cecos, e na altura de vilo, profundidade de cripta e área de absorção dos diferentes segmentos do intestino delgado, exceto pelo aumento na profundidade de cripta com o uso de 50% de sorgo inteiro aos sete dias (SILVA et al., 2014, 2015). De maneira semelhante, o uso de 50% e 100% de sorgo inteiro a partir do oitavo dia resultou em aumento na moela, mas sem alterar o peso e tamanho do intestino delgado e cecos aos 42 dias de idade (FERNANDES et al., 2013). A substituição total de milho por sorgo inteiro

também proporcionou aumento na moela, mas não alterou o pH do conteúdo da mesma aos 21 dias de idade (JACOBS; PARSONS, 2009)

A utilização de outros tipos de grãos inteiros também é capaz de alterar as características do trato gastrintestinal. Diversos estudos mostram que a substituição de parte do trigo moído por inteiro aumenta o peso relativo da moela (AMERAH; RAVINDRAN, 2008; ENGBERG et al., 2004; ERENER et al., 2003; GABRIEL et al., 2008; HETLAND et al., 2002). Porém, o uso de 30% de trigo inteiro não foi suficiente para influenciar no peso da moela (AMERAH et al., 2009, 2011). Por outro lado, estudos comprovam o aumento da moela com substituições a partir de 10% de trigo moído por interio (BIGGS; PARSONS, 2009). A utilização de grão inteiro diminuiu as partículas do alimento no duodeno, porém, se o grão inteiro for incluído em alta quantidade, o tamanho das partículas pode aumentar (HETLAND et al., 2002). A utilização de 50% e 100% de trigo inteiro, a parir da segunda e terceira semanas respectivamente, resultou em aumento no peso relativo do pâncreas e diminuição do comprimento relativo do jejuno (GABRIEL et al., 2008). A utilização de grãos inteiros pode reduzir o pH dos conteúdos da moela e do duodeno e jejuno, mas existem estudos contraditórios (ENGBERG et al., 2004; HETLAND et al., 2002).

1.2.2.3 Morfometria do epitélio jejunal

Imediatamente após a eclosão, os pintainhos utilizam suas limitadas reservas corporais para conseguir um rápido desenvolvimento físico e funcional do trato gastrintestinal, tendo em duas semanas completada a transição da superfície entérica, eliminando todas as células embrionárias remanescentes, sendo este desenvolvimento estimulado de maneiras diferentes pelo alimento (MORAN Jr., 2007; UNI; FERKET, 2004). A mucosa intestinal sofre contínua renovação celular, chamada de “turnover”, a qual pode ser intensificada na presença de alguma perturbação na luz intestinal. Quando o “turnover” intestinal é alterado, há uma modificação na forma das vilosidades e na profundidade das criptas, tendo um maior gasto de energia para esta renovação celular, comprometendo o rendimento econômico do lote (MAIORKA et al., 2002). Na mucosa intestinal estão presentes células caliciformes que são responsáveis pela produção de uma camada de muco que protege a borda em escova contra agressões químicas e efeitos abrasivos da digesta, além de atuar como barreira contra microrganismos e influenciar no transporte entre o conteúdo luminal e a membrana em escova (BOLELI et al., 2002).

Sabe-se que os taninos condensados do sorgo podem causar necroses e alterações na forma das vilosidades da mucosa intestinal e aumento no número de células caliciformes, porém, este tipo de tanino não está presente em sorgos de baixo tanino (sorgos livres de tanino condensado) (CHANG et al., 1994; MITJAVILA et al., 1977). A substituição parcial de milho por sorgo resultou em vilosidades mais altas no duodeno de frangos aos 35 dias de idade (PÉREZ et al., 2013). Este aumento na altura da vilosidade pode ser decorrente do maior índice mitótico nas criptas, visto a substituição parcial de milho por sorgo aumentou este índice no jejuno de aves aos sete dias de idade, porém este efeito não foi observado com a substituição total (TORRES et al., 2013). De maneira semelhante, estudo com substituição total de milho por sorgo sem tanino não mostraram alterações morfométricas no duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade (SILVA et al., 2015). Porém, a substituição de milho por sorgo pode causar maior perda de epitélio severa no duodeno de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade (TORRES et al., 2013).

Em relação ao uso do sorgo inteiro, a substituição total não alterou o epitélio do duodeno, jejuno e íleo, mas sua substituição em 50% resultou no aumento na profundidade de cripta do duodeno aos sete dias de idade (SILVA et al., 2014). Efeito similar foi observado em frangos aos 42 dias de idade alimentados desde o alojamento com sorgo inteiro, apresentando estas aves maior profundidade de cripta no duodeno, sem quaisquer outras alterações no duodeno, jejuno e íleo (SILVA et al., 2015). Porém, outro efeito foi observado no duodeno de aves, aos 23 dias de idade, alimentadas com 50% de trigo inteiro a partir de oito dias, apresentando um aumento na relação vilo:cripta e na área de absorção (GABRIEL et al., 2008). Estudo afirma que dietas com partículas grandes têm menor taxa de passagem no tubo gastrintestinal, o que resulta em um maior contato entre o alimento e a mucosa intestinal, aumentando o comprimento das vilosidades (WARNER, 1981). Entretanto, o aumento na altura das vilosidades não foi um padrão encontrado nos trabalhos com o uso de sorgo inteiro.

As enzimas digestivas presentes na membrana em escova dos enterócitos da mucosa intestinal são responsáveis pela digestão final de muitas das macromoléculas da dieta e sua atividade varia de acordo com a presença ou ausência de substrato. A enzima fosfatase alcalina está associada à regulação da absorção de lipídeos, além de ser conhecida como marcador da maturação dos

enterócitos e as enzimas aminopeptidase e maltase atuam respectivamente na digestão final de proteínas e carboidratos (NARISAWA et al., 2003; TRABER et al., 1991; WEISER, 1973). O tipo de cereal pode influenciar a atividade das enzimas na borda em escova do jejuno, tendo aves alimentadas com dietas à base de sorgo menor atividade de sacarase quando comparadas com dietas de milho, mas sem influenciar as atividades da maltase e fosfatase alcalina (SHAKOURI et al., 2009). Outro estudo também não observou alteração na atividade de fosfatase alcalina, mas um aumento na atividade da aminopeptidase foi observado com a substituição completa de milho por sorgo (TORRES et al., 2013). A utilização de 50% e 100% de trigo inteiro, a parir da segunda e terceira semanas respectivamente, proporcionou um aumento na atividade de fosfatase alcalina no duodeno e jejuno, sem alteração da atividade de aminopeptidase e maltase (GABRIEL et al., 2008).

1.2.2.4 Metabolizabilidade do grão e das dietas

Os valores de energia metabolizável do sorgo podem variar de acordo com a variedade o grão. Estudo mostra que grãos de sorgo com endosperma vítreo apresentam menores valores de EMA, EMV, EMAn e EMVn para frangos de corte em comparação a grãos de endosperma farináceo devido a menor disponibilidade de amido à digestão enzimática, comprovando a influência da textura do endosperma sobre a digestibilidade do amido (ANTUNES et al., 2006). Isto ocorre, pois, o amido do endosperma vítreo esta incrustado em forte arcabouço proteico, que precisa ser previamente digerido para que o amido se torne disponível para digestão enzimática (ROONEY; MILLER, 1982; SULLINS; ROONEY, 1975). A presença do gene waxy também interfere na digestibilidade do amido, sendo que grãos de sorgo waxy possuem maior quantidade de amido rapidamente digestível e menor quantidade de amido resistente quando comparado com o sorgo heterowaxy e normal (SANG et al., 2008). A presença de tanino condensado também influência o conteúdo de energia metabolizável do grão para aves tendo menor valor que as variedades sem tanino condensado (DOUGLAS et al., 1990; ROSTAGNO et al., 2011).

A digestibilidade dos nutrientes também pode sofrer influência do tipo de grão. Estudo encontrou maior coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica e de extrato etéreo em substituição total de milho por sorgo em aves aos 21 dias de idade, não sendo este efeito observado aos 42 dias (TANDIANG et al., 2014). Os

coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca, energia e proteínas são maiores em aves alimentadas com dietas à base de sorgo e milho do que em dietas com cevada ou trigo (SHAKOURI et al., 2009). Durante as duas primeiras semanas de vida, a retenção de minerais como cálcio, fósforo, manganês, zinco e cobre foram maiores em dietas à base de sorgo do que em dietas à base de milho e trigo, mas com menor retenção de ferro (THOMAS; RAVINDRAM, 2010).

O valor de energia do alimento pode ser também alterado pela forma do grão na dieta. A substituição completa de sorgo ou milho moídos em diferentes granulometrias por sorgo inteiro proporcionou um aumento na EMAn e uma diminuição na taxa de passagem do alimento (JACOBS; PARSONS, 2013; RODGERS et al., 2009). Entretanto, este aumento não foi observado em substituições de 10% e 20% (BIGGS; PARSONS, 2009). Esta melhora no aproveitamento energético do alimento também ocorre quando outros grãos inteiros são incluídos na dieta. O uso a partir de 10% de trigo inteiro na dieta mostrou um aumento na EMAn em diferentes ensaios de metabolismos de 3 a 21 dias de idade em frangos de corte de cruzamentos híbridos, mostrando também um aumento da mesma com a idade (BIGGS; PARSONS, 2009). Porém, a utilização de 30% de trigo inteiro não alterou a EMAn aos 21 dias nem a digestibilidade ileal aparente da energia aos 35 dias de idade, sendo esta porcentagem de substituição incapaz de produzir aumento na moela (AMERAH et al., 2009, 2011).

Além da energia, a inclusão de grão inteiro também pode influenciar na digestibilidade da proteína. A substituição completa de milho moído em partículas maiores por sorgo inteiro aumentou os valores de digestibilidade aparente da metionina, lisina treonina, valina, cistina e arginina aos 21 dias de idade (JACOBS; PARSONS, 2013). Entretanto, a substituição em níveis de 10% e 20% não foi capaz de melhorar o coeficiente de digestibilidade de aminoácidos em frangos na mesma idade (BIGGS; PARSONS, 2009). Grandes quantidades de grãos inteiros (trigo, cevada ou aveia) aumentaram a digestibilidade do amido, apresentando estas aves moelas maiores (HETLAND et al., 2002). Porém, estudos mostraram que o uso de 30% de trigo inteiro foi capaz de aumentar o coeficiente de digestibilidade ileal do nitrogênio aos 35 dias, mas não alterou a digestibilidade ileal do amido aos 21 dias (AMERAH et al., 2009, 2011). O uso a partir de 10% de trigo inteiro aumentou o coeficiente de digestibilidade de aminoácidos como arginina, cisteína, histidina,

isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina e valina em frangos de corte aos 21dias de idade (BIGGS; PARSONS, 2009).

Como observado nos estudos, o grão inteiro é capaz de melhorar o aproveitamento dos nutrientes possivelmente pelo aumento na iniciação da digestão proteica pela pepsina e ácido clorídrico e da digestão de amido pela amilase no intestino delgado devido a previa ruptura dos grânulos de amido em aves com moelas maiores, além de possível influencia na dinâmica do amido associada ao aumento de episódios de peristaltismo reverso (LIU et al., 2015). A maior atividade da moela para reduzir os grãos inteiros potencializa a mistura entre os nutrientes e o suco gástrico, beneficiando a digestão do amido (HETLAND et al., 2002). Além disso, o grão inteiro tem um efeito regulatório no fluxo de passagem do alimento no trato digestivo, sendo a moela o órgão chave neste processo, prevenindo uma sobrecarga de amido no trato digestivo, o que levaria a um aumento na digestibilidade deste nutriente (SVIHUS; HETLAND, 2001). Por outro lado, a mudança no pH na moela é afetada pela maior secreção de ácido clorídrico pelo proventrículo com a utilização de grãos inteiros, sendo o ambiente mais ácido uma maneira efetiva de prevenir bactérias potencialmente patogênicas como *Salmonella* e *Clostridium perfringens*, melhorando a saúde intestinal da ave, podendo contribuir com a melhora no desempenho da mesma (BJERRUM et al., 2005; ENGBERG et al., 2004; SVIHUS, 2011). Para que ocorra uma melhor disponibilidade dos nutrientes, é sugerido a inclusão de pelo menos 20% a 30% de partículas de cereal maiores que 1 mm (SVIHUS, 2011).

1.2.2.5 Microbiota

O pintainho ao eclodir do ovo possui o trato gastrintestinal praticamente estéril, sendo este rapidamente colonizado por organismos oriundos do ambiente (AMIT-ROMACH et al., 2004). Aos quatro dias de idade, *Lactobacillus* foi o principal gênero encontrado no duodeno, se tornando dominante nos demais segmentos com a idade, assim como o gênero *Bifidobacterium* se tornou predominante nos cecos com a idade (AMIT-ROMACH et al., 2004). O número de bactérias anaeróbias aumenta a partir da parte proximal para a parte distal dos intestinos, com os maiores valores observados nos cecos (ENGBERG et al., 2004; GABRIEL et al., 2006). A microbiota típica de aves adultas se estabelece por volta de 14 dias no intestino delgado e de 30 dias nos cecos (BARNES et al., 1972). Em aves com idade para o

abate, bactérias da ordem Lactobacillales, principalmente os gêneros *Lactobacillus gallinarum*, *L. crispatus*, *L buchneri* e *L. salivarius*, predominam em todos os seguimentos do intestino delgado, sendo também detectada em níveis elevados nos cecos, sendo este predominado pela ordem Clostridiales e filo Firmicutes e Bacteroidetes (DUMONCEAUX et al., 2006; OAKLEY et al., 2014). Entretanto, estudo mostra que o filo predominante nos cecos de frangos de corte é o Firmicutes, sendo Clostridia, Bacilli e Gammaproteobacteria as classes dominantes e Lachnospiriceae e Ruminococcaceae as famílias dominantes do filo Firmicutes (DANZEISEN et al., 2011). Realizando uma análise média na microbiota de frangos aos três, sete, 14,21, 28 e 49 dias de idade, observou-se uma microbiota do íleo composta de *Lactobacillus* (70%), Clostridiaceae (11%), *Streptococcus* (6,5%), *Enterococcus* (6,5%) e outros, e uma microbiota dos cecos composta de Clostridiaceae (65%), *Fusobacterium* (14%), *Lactobacillus* (8%), *Bacteroides* (5%) e outros (LU et al., 2003).

O perfil da microbiota é influenciado por diversos fatores como a as próprias diferenças entre os indivíduos, idade da ave, ambiente e principalmente pela dieta, incluindo composição, concentração de nutrientes, características físicas, tipo de processamento e presença de aditivos (GABRIEL et al., 2006; OVIEDO-RONDÓN, 2009). As bactérias produzem diversos metabólitos que podem ser bons ou prejudiciais ao hospedeiro, sendo capazes de interagir com o epitélio gastrintestinal podendo causar modificações estruturais e funcionais no mesmo, comprometendo a digestão lipídica e modificando a digestão de carboidratos e proteínas, e causando um aumento nas exigências nutricionais, ou mesmo, agir beneficamente contra patógenos por meio de exclusão competitiva (GABRIEL et al., 2006).

Diversas espécies de bactérias têm sido estudadas para atuarem como probióticos, modulando o perfil bacteriano da microbiota, diminuindo o número de bactérias patogénicas e melhorando o desempenho das aves. A inoculação de frangos com *Lactobacillus* sp., aos 4 dias de idade, proporcionou maior ganho de peso e aumentou o número de *Lactobacillus* spp. e *Firmicutes* no conteúdo fecal (ANGELAKIS; RAOULT, 2010). Estudos em patos mostraram que as espécies *Lactobacillus animalis* e *L. salivarius* possuem forte potencial para o uso como probióticos, mostrando ação inclusive contra *Campylobacter* (EHRMANN et al., 2002; MESSAOUDI et al., 2011) Esporos do gênero *Bacillus* foram isolados do conteúdo fecal de frangos de corte, sendo identificadas as espécies *B. subtilis*, *B.*

pumilus, *B. licheniformis*, *B. clausii*, *B. megaterium*, *B. firmus, B. cereus* e outras não identificadas, apresentando estas atividade contra organismos patogênicos como *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, tendo potencial para o uso como probiótico (BARBOSA et al., 2005). Essa exclusão competitiva de patógenos é resultante de diferentes modos de ação, incluindo exclusão imune, competição por sítios de adesão e produção de agentes antimicrobianos, como as bacteriocinas (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Melhora do desempenho foi observado em frangos de corte que receberam suplemento de *Bacillus coagulans* ou *B. subtilis* como probiótico (CAVAZZONI et al, 1998; MOLNÁR et al., 2011). O uso de probiótico a base de *Pediococcus acidlactici*, além de melhorar o desempenho, diminuiu o número de coliformes no íleo e também o nível de colesterol no soro sanguíneo (TAHERI et al., 2010). A inclusão de *Enterococcus faecium* na dieta de frangos de corte melhorou seu desempenho e aumentou o número de bactérias ácido láticas no íleo e nas excretas (SAMLI et al., 2007). O uso de bacteriocina de *Ruminococcus albus* como promotor de crescimento melhorou o desempenho das aves, além de aumentar o número de *Lactobacillus* e diminuir o número de *Enterococcus* e *Salmonella* nas excretas de frangos de corte aos 35 dias de idade (WANG et al., 2011). Adicionalmente, a utilização de taninos hidrolisáveis de castanha mostrou uma potente atividade bactericida tanto *in vitro* como *in vivo* contra *Clostridium perfringens* (ELIZONDO, 2010; TOSI et al., 2013).

Diversos estudos têm procurado correlacionar grupos de bactérias responsáveis pela melhora ou piora no desempenho. Porém, grupos de aves criadas sob condições controladas desenvolvem microbiotas distintamente diferentes, dificultando a caracterização destes grupos (STANLEY et al., 2016). Estudo abrangeu diversas variáveis como uso de variedades de sorgo diferentes, enzimas e fibras com diferentes digestibilidade, além de diferentes materiais de cama e diferentes linhagens de frangos de corte, mostrando que a presença de *Lactobacillus salivarius*, *L. aviarius*, *L. crispatus*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli*, *Gallibacterium anatis*, *Clostridium lactatifermentans*, *Ruminococcus torques*, *Bacteroides vulgatus* e Alistipes finegoldii no íleo possuem potencial para estarem relacionadas com o melhor desempenho dos frangos de corte (TOROK et al., 2011). Nos cecos, as bactérias das famílias Lachnospiraceae, Ruminococcaceae e Erysipelotrichaceae e os gêneros *Ruminococcus*, *Faecalibacterium, Catabacteriaceae* e múltiplas linhagens do gênero *Clostridium* (das famílias

Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Erysipelotrichaceae e desconhecida) são altamente abundantes em aves com boa conversão alimentar, sendo a presença do gênero *Lactobacillus* associada com pior conversão alimentar (STANLEY et al., 2016). Revisão reuniu recentes estudos científicos sobre o uso de probióticos e mostrou que diversas espécies e cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* podem causar uma redução de peso corporal (RODRIGUEZ et al., 2013). Porém, o uso de culturas de *Lactobacillus* em frangos de corte mostraram aumento no ganho de peso e melhor conversão alimentar, mas reduziu a gordura abdominal e o colesterol do soro sanguíneo (JIN et al., 1998; KALAVATHY et al., 2003). Outros estudos mostram que o aumento de *Lactobacillus* nas excretas de frangos de corte está relacionado com a melhora no desempenho (ANGELAKIS; RAOULT, 2010; WANG et al., 2011).

A mudança na microflora em relação ao tipo de alimento pode ser percebida a partir da moela, onde o número total de bactérias anaeróbias e *Lactobacillus* é menor em aves alimentadas com sorgo do que com milho e cevada (SHAKOURI et al., 2009). Porém, não foram observadas alterações no número de *Enterobacteria* e *Lactobacillus* em frangos de corte aos sete, 21 e 42 dias de idade alimentados com sorgo em substituição ao milho (TORRES, 2010). Maior número de bactérias da família Enterobacteriaceae associada a mucosa do duodeno e íleo foram observadas quando o milho foi substituído pelo sorgo, sem, no entanto, alterar o número de *Enterococcus* e *Lactobacillus*, inclusive no conteúdo luminal (LUNEDO et al., 2014). Entretanto, a substituição de milho por sorgo não alterou o total de bactérias anaeróbias, *Lactobacillus*, enterobactéria lactose-negativa e *Clostridium perfringens* no íleo e cecos de frangos de corte (SHAKOURI et al., 2009). Aves alimentadas com dietas à base de sorgo possuem composição da comunidade microbiana ileal diferente daquelas alimentadas com dietas à base de trigo, porém, com comunidade microbiana cecal semelhante (TOROK et al., 2011).

O perfil da microbiota também pode ser influenciado pela forma do grão, sendo que a substituição parcial de grão moído por grão inteiro altera a microbiota de modo que estas tendem a estar separadas em clusters em lados opostos do dendrograma, mas sem alterar a riqueza da microbiota (AMERAH et al., 2011). Observa-se um aumento na quantidade de algumas espécies de *Lactobacillus* e redução no número de *Clostridium perfringens* no trato gastrintestinal de aves alimentadas com grãos de trigo inteiro (AMERAH et al., 2011; ENGBERG et al., 2004). O uso de 30% de trigo inteiro reduziu o número de enterobactérias lactose-

negativas e aumentou o número de bactérias ácido láticas e de espécies do gênero *Lactobacillus* no intestino delgado, além de reduzir o número de *Clostridium perfringens* e enterococci e aumentar *Lactobacillus* nos cecos de frangos de corte (ENGBERG et al., 2004). A utilização de parte do trigo oferecido inteiro e separadamente dos demais ingredientes da ração diminuiu o número de bactérias facultativas no íleo, sem alterar *Lactobacillus* e *Escherichia coli* no intestino delgado e cecos (GABRIEL et al., 2008). A utilização de grão inteiro de trigo parece melhorar a saúde intestinal devido a redução do pH na moela pela estimulação na função gástrica e aumento no tempo de retenção, podendo esta servir como barreira contra a entrada de bactérias patogênicas. (ENGBERG et al., 2004).

Referências

ADAMU, M.S.; KUBKOMAWA, H.I.; DOMA, U.D.; DUDUWA, A.T. Carcass and gut characteristics of broilers fed diets containing yellow sorghum (*Sorghum bicolor*) variety in place of maize. **International Journal of Sustainable Agriculture**, Deira, v. 4, p. 8-11, 2012.

AMERAH, A.M.; PÉRON, A.; ZAEFARIAN, F.; RAVINDRAN, V. Influence of whole wheat inclusion and a blend of essential oils on the performance, nutrient utilization, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 52, n. 1, p. 124-132, 2011.

AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V. Influence of method of whole-wheat feeding on the performance, digestive tract development and carcass traits of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 147, p. 326-339, 2008.

AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R.G. Influence of insoluble fiber and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 50, n. 3, p. 366-375, 2009.

AMIT-ROMACH, E.; SKLAN, D.; UNI, Z. Microflora ecology of chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 1093-1098, 2004.

ANGELAKIS, E.; RAOULT, D. The increase of Lactobacillus species in the gut flora of newborn chicks and ducks is associated with weight gain. **PLoS One**, San Francisco, v. 5, n. 5, e10463, 2010.

ANTUNES, R.C.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; BAIÃO, N.C.; PEREIRA, L.G.R.; LARA, L.J. Valor nutritivo de grãos de sorgo com diferentes texturas do endosperma para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, p. 877-883, 2006.

AWIKA, J.M.; ROONEY, L.W. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, London, v. 65, p. 1199-1121, 2004.

BARBOSA, T.M.; SERRA, C.R.; LA RAGIONE, R.M.; WOOWARD, M.J.; HENRIQUES, A.O. Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 2, p. 968-978, 2005.

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

BIGGS, P.; PARSONS, C.M. The effects of whole grains on nutrient digestibilities, growth performance, and cecal short-chain fatty acid concentrations in young chicks fed ground corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, p. 1893-1905, 2009.

BJERRUM, L.; PEDERSEN, A.B.; ENGBERG, R.M. The influence of whole wheat feeding on *Salmonella* infection and gut flora composition in broilers. **Avian Disease**, Ithaca, v. 49, n. 1, p. 9-15, 2005.

BLESSIN, C.W. Carotenoids of corn and sorghum. I. Analytical procedure. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 39, p. 236-241, 1962.

BOLELI, I. C. MAIORKA, A., MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.). **Fisiologia aviária**: aplicada a frangos de corte. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 75-95.

CAGAMPANG, G.B., KIRLEIS, A.W. Relationship of sorghum grain hardness to selected physical and chemical measurements of grain quality. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 61, p. 100-105, 1984.

CAROLINO, A.C.X.; SILVA, M.C.A.; LITZ, F.H.; FAGUNDES, N.S.; FERNANDES, E.A. Rendimento e composição de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo sorgo grão inteiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1139-1148, 2014.

CARVALHO, L.S.S.; FAGUNDES, N.S.; LITZ, F.H.; SAAR, A.G.L.; FERNANDES, E.A. Sorgo grão inteiro ou moído em substituição ao milho em rações de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 1757-1765, 2015.

CASTRO, A.G.M. Patologias gastrointestinais: importância do controle. In: FÓRUM INTERNACIONAL DE AVICULTURA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais…** Foz do Iguaçu: Editora Animal World, 2005. v. 1,

CAVAZZONI, V.; ADAMI, A.; CASTROVILLI, C. Performance of broiler chickens supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. **British Poultry Science**, Edinburgh v. 39, p. 526-529, 1998.

CHANG, J.J.; BAILEY, J.W.; COLLINS, J.L. Dietary tannnis from cowpeas and tea transiently alter apparent calcium absorption and utilization of protein in rats. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 124, p. 283-288, 1994.

CHAPLIN, S.B. Effect of caecectomy on water and nutrient absorption of birds. **Journal Experimental of Zoology Supplement**, Hoboken, v. 3, p. 81-86, 1989.

DANZEISEN, J.L.; KIM, H.B.; ISSACSON, R.E.; TU, Z.J.; JOHSON, T.J. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 11, e27949, p. 1-14, 2011.

DOUGLAS, J.H.; SULLIVAN, T.W.; BOND, P.L.; STRUWE, F.J. Nutrient composition and metabolizable energy values of selected grain sorghum varieties and yellow corn. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 12, p. 2150-2156, 1990.

DUMONCEAUX, T.J.; HILL, J.E.; HEMMINGSEN, S.M.; VAN KESSEL, A.G. Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 4, p. 2815-2823, 2006.

DUODU, K.; TAYLOR, J.; BELTON, P.; HAMAKER, B. Factors affecting sorghum protein digestibility. **Journal of Cereal Science**, London, v. 38, p. 117-131, 2003.

DYKES, L.; ROONEY, L.W.; WANISKA, R.D.; ROONEY, W.L. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 15, p. 6813-6818, 2005.

EHRMANN, M.A.; KURZAK P.; BAUER, J.; VOGEL, R.F. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 92, n. 5, p. 966-975, 2002.

ELIZONDO, A.M.; MERCADO, E.C.; TABINOVITZ, B.C.; FERNANDEZ-MIYAKAWA, M.E. Effect of tannins on the *in vitro* growth of *Clostridium perfringens*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 145, n. 3/4, p. 308-314, 2010.

ELKIN, R.G., FREED, M.B., HAMAKER, B.R., ZHANG, Y., PARSONS, C.M. Condensed tannins are only partially responsible for variations in nutrient digestibilities of sorghum grain cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Washington, v. 44, p. 848-853, 1996.

ENGBERG, R.M.; HEDEMANN, M.S.; STEENFELDT, S.; JENSEN, B.B. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract**. Poultry Science**, Champaign v. 83, p. 925-938, 2004.

ERENER, G.; OCAK, N.; OZTURK, E.; OZDAS, A. Effect of different choice feeding methods based on whole wheat on performance of male broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 106, p. 131-138, 2003.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. **Grain**: world markets and trade. Washington, 2016. 56 p.

FERNANDES, E.A.; PEREIRA, W.J.S.; HACKENHAAR, L.; RODRIGUES R.M.; TERRA, R. The use of whole grain in broiler feeds. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 169-286, 2013.

FERRANDO, C.; VERGARA, P.; JIMÉNEZ, M.; GOÑALONS, E. Study of the rate of passage of food with chromium-mordanted plant cells in chickens (*Gallus gallus*). **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, Hove, v. 72, p. 251-259, 1987.

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

GABRIEL, I.; MALLET, S.; LECONTE, M.; TRAVEL, A.; LALLES, J.P. Effects of whole wheat feeding on the development of the digestive tract of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 142, p. 144-162, 2008.

GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BULÉON, A.; PÉREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 46, suppl. 2, p. S3-S16, 1992.

GARCIA, R.G.; MENDES, A.A.; COSTA, C.; PAZ, I.C.L.A.; TAKAHASHI, S.E.; PELÍCIA, K.P.; KAMIYAMA, C.M.; QUINTEIRO, R.R. Desempenho e qualidade da carne de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de sorgo em substituição ao milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 5, p. 634-643, 2005.

GROOTBOOM, A.W.; MKHONZA N.L.; MBAMBO, Z.; O'KENNEDY, M.M.; SILVA, L.S.; TAYLOR, J.; TAULOR, J.R.N.; CHIKWAMBA, R.; MEHLO, L. Co-suppression of synthesis of major α-kafirin sub-class together with γ-kafirin-1 and γ-kafirin-2 required for substantially improved protein digestibility in transgenic sorghum. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 33, p. 521-537, 2014.

HALLGREN, L.; MURTHY, D.S. A screening test for grain hardness in sorghum employing density grading in sodium nitrate solution. **Journal of Cereal Science**, London, v. 1, p. 265-274, 1983.

HAMAKER, B.; MOHAMED, A.; HABBEN, J.; HUANG, C.; LARKINS, B. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 72, p. 583-588, 1995.

HETLAND, H.; SVIHUS, B.; OLAISEN, V. Effect of feeding whole cereal on performance, starch digestibility and duodenal particle size distribution in broiler chickens. **British Poultry Science,** Edinburgh, v. 43, n. 3, p. 416-423, 2002.

HOSENEY, R.C.; DAVIS, A.B.; HARBERS, L.H. Pericarp and endosperm structure of sorghum grain shown by scanning electron microscopy. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 51, p. 552-558, 1974.

HUBBARD, J.E.; HALL, H.H.; EARLE, F.R. Composition of the component parts of the sorghum kernel. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 27, p. 415-420, 1950.

IOERGER, B.; BEAN, S.R.; TUINSTRA, M.R.; PEDERSEN, J.F.; ERPELDING, J.; LEE, K.M.; HERRMAN, T.J. Characterization of polymeric proteins from vitreous and floury sorghum endosperm. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, p. 10232-10239, 2007.

JACOBS, C.; PARSONS, C.M. The effects of coarse ground corn, whole sorghum, and a prebiotic on growth performance, nutrient digestibility and cecal microbial populations in broilers fed diets with and without corn distillers dried grains with solubles. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, p. 2347-2357, 2013.

JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, p. 1259-1265, 1998.

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

LICHTENWALNER, R.E.; ELLIS, E.B.; ROONEY, L.W. Effect of incremental dosages of the waxy gene of sorghum on digestibility. **Journal of Animal Science**, Pavia, v. 46, n. 4, p. 1113-1119, 1978.

LIU, S.Y.; TRUONG, H.H.; SELLE, P.H. Whole-grain feeding for chicken meat production: possible mechanisms driving enhanced energy utilization and feed conversion. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 55, p. 559-572, 2015.

LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J.J.; LEE, M.D. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken, **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 11, p. 6816-6824, 2003.

LUNEDO, R.; FERNANDEZ-ALARCON, M.F.; CARVALHO, F.M.S.; FURLAN, L.R.; MACARI, M. Analysis of the intestinal bacterial microbiota in maize- or sorghum-fed broiler chickens using real-time PCR. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 55, n. 6, p. 795-803, 2014.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃOES, F.O.M.; RODRIGUES, J.A.S. **Tanino no grão de sorgo.** 2013. (Embrapa Milho e Sorgo Sistema de Produção, 2). Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivodoSorgo/tanino.htm>. Acesso em: 03 jul. 2013.

MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.). **Fisiologia aviária:** aplicada a frangos de corte. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 113-123.

MANGAN, J.L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 1, p. 209-231, 1988.

MESSAOUDI, S.; KERGOURLAY, G.; ROSSERO, AL.; FERCHICHI, M.; PRÉVOST, H.; DRIDER, D.; MANAI, M.; DOUSSET, X. Identification of lactobacilli residing in chicken ceca with antagonism against *Campylobacter*. **International Microbiology**, Barcelona, v. 14, p. 103-110, 2011.

MITJAVILA, S., LACOMBE, C., CARRERA, G., DERACHE, R. Tannic acid and oxidized tannic acid on the functional state of rat intestinal epithelium. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 107, p. 2113-2121, 1977.

MOLNÁR, A.K.; PODMANICZKY, B.; KURTI, P.; TENK, I.; GLÁVITS, R.; VIRÁG, G.Y.; SZABÓ, Z.S. Effect of different concentrations of *Bacillus subtilis* on growth performance, carcase quality, gut microflora and immune response of broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 52, n. 6, p. 658-665, 2011.

MORAN Jr., E.T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, n. 5, p. 1043-1049, 2007.

MORTENSEN, A. Importance of microbial nitrogen metabolism in the cecum of the birds. In: KLUG, M.J.; REDDY, C.A. **Current perspectives in microbial ecology**. Washington: American Society of Microbiology, 1984. p. 273-278.

NARISAWA, S.; HUANG, L.; IWASAKI, A.; HASEGAWA, H.; ALPERS, D.H.; MILLA´N, J.L. Accelerated fat absorption in intestinal alkaline phosphatase knockout mice. **Molecular and Cellular Biology**, Washington, v. 23, n. 21, p. 7525–7530, 2003.

NEURECE, N.J.; SUMRELL, G. Chemical composition of different varieties of grain sorghum. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 28, p. 19-21, 1980.

OAKLEY, B.B.; LILLEHOJ, H.S.; KOGUT, M.H.; KIN, W.K.; MAURER, J.J.; PEDROSO, A.; LEE, M.D.; COLLET, S.T.; JOHNSON, T.J.; COX, N.A. The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 360, p. 100-112, 2014.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. Molecular methods to evaluate effects of feed additives and nutrients in poultry gut microflora. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 209-225, 2009. Suplemento especial.

PATTERSON, J.A.; BURKHOLDER, K.M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p. 627-631, 2003.

PEDERSEN J.F.; BEAN, S.R.; GRAYBOSCH, R.A.; PARK, S.H.; TILLEY, M. Characterization of waxy grain sorghum lines in relation to granule-bound starch synthase. **Euphytica**, Dordrecht, v. 144, p. 151-156, 2005.

PÉREZ, C.; BASILIO, V.; COLINA, I.; MACHADO, I.; ROSSINI, M.; ARRIETA, D. Effect of the addition of enzyme complexes in sorghum (*Sorghum bicolor*) based diets on intestinal integrity of broilers. **Revista Científica**, Rio de Janeiro, v. 23, p. 59-66, 2013.

PRICE, M.L.; BUTLER, L.G. Tannins and nutrition. **Purdue University Agricultural Experimental Station Bulletin**, Lafayette, v. 272, p. 12-15, 1980.

RAO, P.S.; KUMAR, C.G.; REDDY, B.V.S. Sweet sorghum: from theory to practice. In: RAO, P.S.; KUMAR, C.G. (Ed.). **Characterization of improved sweet sorghum cultivars**. Berlin: Springer, 2013. p. 1-17.

RODGERS, N.; IJI, P.A.; MIKKELSEN, L.L.; SVIHUS, B.; HETLAND, H.; CHOCT. Effect of grain particle size and milling method on broiler performance and apparent metabolizable energy. In: ANNUAL AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 20., 2009, Sidney. **Proceedings…** Sidney: Poultry Research Foundation, 2009. p. 133-136.

RODRÍGUEZ, J.M.; SOBRINO, O.J.; MARCOS, A.; COLLADO, M.C.; PÉREZ-MARTÍNES, G.; MARTÍNEZ-CUESTA, M.C.; PELÁEZ, C.; REQUENA, T. ¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal? **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 28, supl. 1, p. 3-12, 2013.

ROONEY, L.W.; MILLER, F.R. Variation in the structure and kernel characteristics of sorghum. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SORGHUM GRAIN QUALITY, 1., 1981, Patancheru. **Proceedings…** Patancheru: ICRISAT, 1982. p. 143-162.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252 p.

SAMLI, H.E.; SENKOYLU, N.; KOC, F.; KANTER, M.; AGMA, A. Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. **Archives of Animal Nutrition**, Abingdon, v. 61, n. 1, p. 42-49, 2007.

SANG, Y.; BEAN, S.; SEIB, P.A.; PEDERSEN, J.; SHI, Y.C. Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, p. 6680-6685, 2008.

SEDGHI, M. EBADI, M.R.; GOLIAN, A.; AHMADI, H. Estimation and modeling true metabolizable energy of sorghum grain for poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, p. 1138-1143, 2011.

SHAKOURI, M.D.; IJI, P.A.; MIKKELSEN, L.L.; COWIESON, A.J. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 93, p. 647-658, 2009.

SHEWRY, P.R. The major seed storage proteins of spelt wheat, sorghum, millets and pseudocereals. In: BELTON, P.S.; TAYLOR, J.R.N. (Ed.). **Pseudocereals and less common cereals**. Berlin: Springer, 2002. p. 1-24.

SILVA, M.C.A.; CAROLINAO, A.C.X.G.; LITZ, F.H.; FAGUNDES, N.S.; FERNANDES, E.A. Sorgo grão inteiro na ração preinicial de pintinhos de corte e os efeitos sobre o desenvolvimento corporal e do tubo gastrintestinal. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 18, p. 2769-2782, 2014.

SILVA, M.C.A.; CAROLINO, A.C.X.G.; LITZ, F.H.; FAGUNDES, N.S.; FERNANDES, E.A.; MENDONÇA, G.A. Effects of sorghum on broilers gastrointestinal tract. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 95-102, 2015.

STANLEY, D.; HUGHES, R.J.; GEIER, M.S.; MOORE, R.J. Bacteria within the gastrointestinal tract microbiota correlated with improved growth and feed conversion: challenges presented for the identification of performance enhancing probiotic bacteria. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 1-13, 2016.

STURKIE, P.D. **Avian physiology**, New York: Cornell University Press, 1991. 217 p.

SULLINS, R.D.; ROONEY, L.W. Light and scanning electron microscopy studies of waxy and nonwaxy endosperm sorghum varieties. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 52, n. 3, p. 361-366, 1975.

SVIHUS, B. The gizzard: function, influence of diet structure and effects on nutrient availability. **World's of Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 67, p. 207-223, 2011.

SVIHUS, B.; HETLAND, H. Ileal starch digestibility in growing broiler chickens fed on a wheat-based diet is improved by mash feeding, dilution with cellulose or whole wheat inclusion. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 42, p. 633-637, 2001.

TAHERI, H.R.; MORAVEJ, H.; MALAKZADEGAN, A.; TABANDEH, F.; ZAGHARI, M.; SHIVAZAD, M.; ADIBMORADI, M. Efficacy of *Pediococcus acidilactici*-based probiotic on intestinal coliforms and villus height, serum cholesterol level and performance of broiler chickens. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 44, p. 7564-7567, 2010.

TANDIANG, D.M.; DIOP, M.T.; DIENG, A.; YODA, G.M.L.; CISSE, N.; NASSIM, M. Effect of corn substitution by sorghum grain with low tannin content on broilers production: animal performance, nutrient digestibility and carcass characteristics. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 13, n. 10, p. 568-576, 2014.

TAYLOR, J.R.N.; SHEWRY, P.R. Preface to the sorghum and millet reviews. **Journal Cereal Science**, London, v. 44, p. 223, 2006.

TESSO, T.; EJETA, G.; CHANDRASHEKAR, A.; HUANG, C.P.; TANDJUNG, A.; LEWAMY, M.; AXTELL, J.D.; HAMAKER, B.R. A novel modified endosperm texture in a mutant high-protein digestibility/high-lysine grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 83, n. 2, p. 194-201, 2006.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 60, p. 186-195, 2004.

THOMAS, D.V.; RAVINDRAN, V. Mineral retention in young broiler chicks fed diets based on wheat, sorghum or maize. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 23, p. 68-73, 2010.

TOROK, V.A.; HUGHES, R.J.; MIKKELSEN, L.L.; PEREZ-MALDONADO, R.; BALDING, K.; MACALPINE, R.; PERCY, N.J.; OPHEL-KELLER, K. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 17, p. 5868-5878, 2011.

TORRES, K.A.A. **Avaliação do desempenho zootécnico, da função da mucosa intestinal e da microbiota ileal quando da substituição do milho pelo sorgo na ração de frangos de corte**. 2010. 78 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2010.

TORRES, K.A.A.; PIZAURO JR. J.M.; SOARES, C.P.; SILVA, T.G.A.; NOGUEIRA, W.C.L.; CAMPOS, D.M.B.; FURLAN, R.L.; MACARI, M. Effects of corn replacement by sorghum in broiler diets on performance and intestinal mucosa integrity. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, p. 1564-1571, 2013.

TOSI, G.; ANTONGIOVANNI, M.; BUCCIONI, A.; MINIERI, S.; MARENCHINO, L.; MELE, M. Efficacy test of a hydrolysable tannin extract against necrotic enteritis in challenged broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, Pavia, v. 12, p. 386-389, 2013

TRABER, P.; GUMUCIO, D.L.; WANG, W. Isolation of intestinal cell for the study of differential gene expression along the crypt-villus axis. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 260, p. 895-903, 1991.

TURK, D.E. The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization. **Poultry Science**, Champaign, v. 61, n. 7, p. 1225-1244, 1982.

UNI, Z.; FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 60, n. 1, p. 101-111, 2004.

VIRUPAKSHA, T.K.; SASTRY, L.V.S. Protein content and amino acid composition of some varieties of grain sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 16, n. 2, p. 199-203, 1968.

WAGHORN, G. Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine. In: ANNUAL CONFERENCE OF CANADIAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 1., 1996, Lethbridge. **Proceedings…** Lethbridge: CSAS, 1996. p. 175-194.

WALL, J.S.; BLESSIN, C.W. Composition and structure of sorghum grains. **Cereal Science Today**, St. Paul, v. 14, n. 8, p. 264-271, 1969.

WANG, H.T.; YU, C.; HSIEH, Y.H.; CHEN, S.W.; CHEN, B.J.; CHEN, C.Y. Effects of albusin B 9 (a bacteriocin) of *Ruminococcus albus* 7 expressed by yeast on growth performance and intestinal absorption of broiler chickens: its potential role as an

alternative to feed antibiotics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, p. 2338-2343, 2011.

WARNER, A.C.I. Rate of passages of digesta though the gut of mammals and birds. **Nutrition Abstracts and Reviews.** Series B, Aberdeen, v. 51, p. 789-820, 1981.

WEISER, M.M. Intestinal epithelial cell surface membrane glycoprotein synthesis: I- an indicator of cellular differentiation. **The Journal of Biological Chemistry,** San Francisco, v. 248, p. 2536-2541, 1973.

2 SUBSTITUIÇÃO TOTAL DO MILHO POR SORGO ALTERA A MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE SEM ALTERAR O DESEMPENHO

Resumo

O grão de sorgo pode ser utilizado em substituição ao milho em rações de frangos de corte. Porém, os efeitos em relação a mudança brusca entre os grãos ainda não são claros. Objetivou-se avaliar o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte alimentados com milho e/ou sorgo, assim como a mudança entre os grãos ao final da fase pré-inicial. Para isso, um total de 2100 pintos macho receberam as seguintes dietas experimentais: M100% (ração à base de milho em todas as fases de criação); S100% (ração à base de sorgo em todas as fases de criação); M:S50% (ração à base de 50% milho e 50% sorgo em todas as fases de criação); PS-M (ração à base de sorgo na ração pré-inicial e milho nas demais fases); PM-S (ração à base de milho na ração pré-inicial e sorgo nas demais fases). Dois ensaios simultâneos foram realizados em um delineamento em blocos casualizados: desempenho em boxes experimentais até 40 dias de idade (n=8) e ensaio de metabolismo em gaiolas (n=10). Foram avaliados o desempenho, morfometria e número de células caliciformes presentes no jejuno, energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMMS) das rações e a microbiota do intestino delgado e cecos aos 10 e 21 dias de idade (sequenciamento do gene 16S). As diferentes dietas não alteraram o desempenho dos frangos de corte, seu epitélio jejunal e a metabolizabilidade das rações. Porém, as diferentes dietas influenciaram a porcentagem de gêneros *Clostridium*, *Weissella, Bacillus* e *Alkaliphilus* no intestino delgado. Por outro lado, os gêneros influenciados pela dieta nos cecos foram *Lactobacillus* e *Desulfotomaculum.* A idade também influenciou a microbiota dos segmentos intestinais. Conclui-se que o uso de sorgo bem como a mudança de grão após a fase pré-inicial não altera o desempenho de frangos de corte. Entretanto, o uso de sorgo altera a microbiota intestinal, especialmente pela diminuição de *Clostridium* e aumento de *Lactobacillus* no intestino delgado e cecos, respectivamente.

Palavras-chaves: Nutrição; Flora intestinal; Sequenciamento genético.

Abstract

Sorghum grain can be used to replace corn in the broiler diets. However, the effects related to an abrupt change between these grains are not clear yet. The aim of this study was to evaluate the performance and intestinal health of broilers fed diets containing corn and/or sorghum, and the change between the grains at the end of the pre-starter phase. In order to do that, 2,100 male chicks were fed the experimental diets: C100% (based corn ration in all phases); S100% (based sorghum ration in all phases); C:S50% (based corn 50% sorghum 50% ration in all phases); PC-S (based corn ration in pre-started phase and sorghum in other phases); and PS-C (based sorghum ration in the pre-started phase and corn in other phases). The experiment was conducted in a randomized block design, with two simultaneous trials: performance up to 40 days (n=8), and metabolism in cages (n=10).

Performance, jejunal morphometry and goblet cells, apparent metabolizable energy (AME), apparent metabolizable energy corrected for nitrogen (AMEn) and coefficient of apparent metabolizability of dry matter (CMDM) of the diets, and intestinal microbiota of small intestine and caecum at 10 and 21 days of age (16S gene sequencing) were evaluated. The different experimental diets did not affect performance, jejunal epithelium, neither AME, AMEn and CMDM. However, experimental diets altered the percentage of the genera *Clostridium*, *Weissella*, *Bacillus* and *Alkaliphilus* in the small intestine. In addition, the genera *Lactobacillus* and *Desulfotomaculum* in the caecum were altered by the experimental diets. The age also altered the microbiota of different intestinal segments. In conclusion, feeding sorghum in replacement to corn as well as the grain change after the pre-starter phase do not alter broiler performance. However, sorghum alters the intestinal microbiota, resulting in lower percentage of *Clostridium* and higher percentage of *Lactobacillus* in the small intestine and caecum, respectively.

Keywords: Nutrition; Milo; Gut microbiota; Genetic sequencing

2.1 Introdução

O sorgo é uma gramínea de origem africana de nome científico *Sorghum bicolor* (L.) Moench, sendo o quinto cereal mais produzido no mundo (TAYLOR; SHEWRY, 2006) e o sétimo grão mais produzido no Brasil, ficando apenas atrás da soja, milho, arroz, trigo, feijão e caroço de algodão (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2015). No Brasil, durante a safra 2014/2015, foram produzidas 2.055,3 mil toneladas de sorgo, o que representa 2,4% da produção de milho (CONAB, 2015). O sorgo pode ser utilizado na alimentação humana, produção de combustíveis e forragens, além de poder ser utilizado em rações animais (RAO et al., 2013), sendo um importante substituto do milho em rações de frangos de corte em função de seu preço.

Os estudos mostram que a substituição total ou parcial de milho por sorgo é viável a partir de um dia de idade (GARGIA et al., 2005; TORRES et al., 2013). Entretanto, esta substituição ainda é vista com certa resistência, principalmente na fase pré-inicial, devido à presença de fatores antinutricionais como o tanino, que prejudica o desempenho das aves (TANDIANG et al., 2014). Por isso, é comum que o sorgo não seja fornecido para aves no alojamento, recebendo em seu período inicial rações à base de milho. Em outros casos, a participação do sorgo nas rações está muito mais ligada à real disponibilidade do produto e por quanto tempo os estoques do grão poderão ser uma estratégia de economia nos custos de produção. Neste caso, além de lotes que poderão receber rações iniciais à base de milho,

mudando posteriormente para sorgo, também poderão haver aves que receberão ração inicial com sorgo e posteriormente com milho.

Estudos comprovam que a composição do alimento ingerido pode influenciar tanto o desempenho do animal, quanto sua saúde intestinal. Por esse motivo, são necessários estudos que avaliem como a mudança entre o uso do grão de milho e sorgo nas rações de frangos de corte pode influenciar o trato gastrointestinal destes animais e, consequentemente, seu desempenho, visto que essas mudanças na alimentação das aves são adotadas sem maiores cuidados pela indústria avícola.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar em frangos de corte o seu desempenho, epitélio jejunal, metabolizabilidade das rações e microbiota intestinal, quando alimentados com milho e/ou sorgo, assim como a mudança entre os grãos ao final da fase pré-inicial. A elucidação destes fatores irá auxiliar na tomada de decisão sobre como e quando utilizar o sorgo em rações de frangos de corte, buscando uma maior produtividade e saúde intestinal.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Criação das aves

Um total de 1800 pintos machos da linhagem Ross AP95® de um dia de idade foram alojados em aviário experimental em um delineamento em blocos casualizados (blocos no tempo). O experimento foi composto por cinco tratamentos com oito repetições cada (quatro por bloco), sendo cada repetição inicialmente composta por 49 aves no Bloco A e 41 aves no Bloco B. As aves foram criadas em boxes com área de 4,5m², piso coberto por casca de arroz, bebedouro automático e comedouro tubular.

Para a realização dos ensaios de metabolismo com início aos sete e aos 15 dias de idade, outros 300 pintos machos de um dia de idade, do mesmo lote, foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados (blocos no tempo). Os ensaios de metabolismo foram compostos pelos mesmos cinco tratamentos, com 10 repetições cada (cinco por bloco), sendo seis aves por gaiola na primeira coleta e três aves por gaiola na segunda. As aves foram alojadas em gaiolas de metabolismo, com 1,00 m de comprimento, por 0,34 m de largura e 0,20 m de altura, com aquecimento, piso de tela, comedouro e bebedouro de aço inoxidável tipo calha e uma bandeja inferior removível para coleta total de excretas.

As práticas de manejo foram feitas para garantir ambiência adequada, oferta de água limpa e fresca e ração à vontade. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - ESALQ/USP, protocolo n. 2014-03.

2.2.2 Dietas experimentais

Os tratamentos foram formados a partir das dietas experimentais: M100% (uso de milho em todas as fases de criação); S100% (uso de sorgo em todas as fases de criação); M:S50% (uso de 50% de milho e 50% de sorgo em todas as fases de criação); PS-M (uso de sorgo na ração pré-inicial e milho nas demais fases); PM-S (uso de milho na ração pré-inicial e sorgo nas demais fases). As rações das fases de criação pré-inicial, inicial, crescimento e final foram formuladas à base de milho e/ou sorgo (moídos em moinho de martelo com peneira de 3 mm) e farelo de soja, atendendo os níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al. (2011) (Tabelas 1 e 2). As matrizes nutricionais do milho, sorgo e farelo de soja foram previamente ajustadas em relação à proteína bruta e aminoácidos, a partir de análises bromatológicas realizadas.

2.2.3 Avaliação do desempenho

Semanalmente, foram realizadas as pesagens das aves, ração fornecida, sobra de ração e diariamente, monitoramento e pesagem de aves mortas. Por meio destes dados, o desempenho dos frangos foi avaliado calculando-se o peso vivo, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar aos sete, 14, 21, 28, 35 e 40 dias de idade. A viabilidade foi calculada apenas ao final do experimento (40 dias de idade). Avaliação do desempenho adicional foi realizada aos dez dias de idade (três dias após a mudança das rações) para avaliar o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar neste período.

2.2.4 Avaliação do epitélio jejunal

Aos 10 dias de idade, uma ave de cada unidade experimental foi selecionada sem jejum prévio e eutanasiada por deslocamento cervical para coleta do jejuno. Com o jejuno ainda fechado, fragmentos de aproximadamente 1 cm de comprimento na porção média foram fixados em formol a 10% para confecção de lâminas histológicas. Os segmentos foram divididos transversalmente em três fragmentos e

preparados para microscopia de luz convencional na coloração ácido periódico-Schiff (PAS).

Tabela 1 - Ingredientes e composição nutricional calculada das rações experimentais pré-inicial e inicial para frangos de corte

Ingredientes (%)	Pré-Inicial (1-7 dias)			Inicial (8-21 dias)		
	Milho	Sorgo	M:S	Milho	Sorgo	M:S
Milho	51,352	0,000	25,332	53,258	0,000	26,274
Sorgo[1]	0,000	49,999	25,332	0,000	51,853	26,274
Farelo de soja	41,269	40,848	41,059	38,929	38,494	38,712
Óleo de soja	2,994	4,663	3,840	3,967	5,698	4,834
Fosfato bicálcico	1,883	1,839	1,860	1,532	1,485	1,509
Calcário calcítico	0,913	0,946	0,929	0,945	0,979	0,963
Sal comum	0,508	0,509	0,508	0,483	0,484	0,484
MHA[2]	0,476	0,528	0,503	0,396	0,450	0,425
L-Lisina HCL	0,204	0,241	0,223	0,139	0,178	0,159
L-Treonina	0,071	0,097	0,084	0,031	0,059	0,046
Premix vitamínico[3]	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150
Premix mineral[4]	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto de colina (60%)	0,080	0,080	0,080	0,070	0,070	0,070
Agente anticoccidiano[5]	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional calculada						
Proteína bruta (%)	23,000	23,000	23,000	22,000	22,000	22,000
Energia metabolizável (kcal/kg)	2960	2960	2960	3050	3050	3050
Cálcio (%)	0,920	0,920	0,920	0,841	0,841	0,841
Cloro (%)	0,354	0,348	0,351	0,339	0,333	0,336
Fósforo disponível (%)	0,470	0,470	0,470	0,401	0,401	0,401
Potássio (%)	0,904	0,917	0,911	0,789	0,790	0,870
Sódio (%)	0,220	0,220	0,220	0,210	0,210	0,210
Lisina digestível (%)	1,324	1,324	1,324	1,217	1,217	1,217
Metionina digestível (%)	0,643	0,665	0,654	0,577	0,600	0,590
Met+Cistina digestível (%)	0,953	0,953	0,953	0,876	0,876	0,876
Treonina digestível (%)	0,861	0,861	0,861	0,791	0,791	0,791

[1]Fenóis totais: 0,525%; Taninos totais: 0,347%; Taninos condensados: não detectado.
[2]Metionina hidroxi-análoga.
[3]DSM Nutritional Products, Composição por kg de produto: Vit. A – 9000000 UI; Vit. D3 - 2500000 UI; Vit. E - 20000 UI; Vit. K3 – 2500 mg; Vit. B1 – 2000 mg; Vit. B2 – 6000 mg; Vit. B6–3000 mg; Vit. B12 – 15000µg; Ácido Nicotínico - 35 g; Ácido Pantotênico – 12 g; Biotina–100 mg; Ácido Fólico–1500 mg; Selênio – 250 mg.
[4]DSM Nutritional Products, Composição por kg de produto: Manganês - 160000 mg; Ferro - 100000 mg; Zinco - 100000 mg; Cobre - 20000 mg; Cobalto - 2000 mg; Iodo - 2000 mg
[5]Salinomicina 12%.

Tabela 2 - Ingredientes e composição nutricional calculada das rações experimentais crescimento e final para frangos de corte

Ingredientes (%)	Crescimento (22-35 dias)			Final (36-40 dias)		
	Milho	Sorgo	M:S	Milho	Sorgo	M:S
Milho	56,753	0,000	27,994	61,627	0,000	30,397
Sorgo[1]	0,000	55,251	27,994	0,000	59,991	30,397
Farelo de soja	34,986	34,527	34,757	30,727	30,234	30,479
Óleo de soja	4,777	6,623	5,713	4,555	6,560	5,572
Fosfato bicálcico	1,313	1,264	1,288	1,105	1,051	1,078
Calcário calcítico	0,889	0,925	0,908	0,796	0,835	0,816
Sal comum	0,458	0,459	0,458	0,445	0,446	0,445
MHA[2]	0,374	0,431	0,403	0,348	0,410	0,380
L-Lisina HCL	0,152	0,193	0,172	0,190	0,235	0,213
L-Treonina	0,028	0,057	0,043	0,037	0,068	0,053
Premix vitamínico[3]	0,120	0,120	0,120	0,080	0,080	0,080
Premix mineral[4]	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto de colina (60%)	0,050	0,050	0,050	0,040	0,040	0,040
Agente Anticoccidiano[5]	0,050	0,050	0,050	0,000	0,000	0,000
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional calculada						
Proteína bruta (%)	20,500	20,500	20,500	19,000	19,000	19,000
Energia metabolizável (kcal/kg)	3150	3150	3150	3200	3200	3200
Cálcio (%)	0,758	0,758	0,758	0,663	0,663	0,663
Cloro (%)	0,324	0,318	0,321	0,317	0,311	0,314
Fósforo disponível (%)	0,354	0,354	0,354	0,309	0,309	0,309
Potássio (%)	0,722	0,723	0,812	0,741	0,757	0,749
Sódio (%)	0,200	0,200	0,200	0,195	0,195	0,195
Lisina digestível (%)	1,131	1,131	1,131	1,060	1,060	1,060
Metionina digestível (%)	0,544	0,568	0,557	0,509	0,536	0,523
Met+Cistina digestível (%)	0,826	0,826	0,826	0,774	0,774	0,774
Treonina digestível (%)	0,735	0,735	0,735	0,689	0,689	0,689

[1]Fenóis totais: 0,525%; Taninos totais: 0,347%; Taninos condensados: não detectado.
[2]Metionina hidroxi-análoga.
[3]DSM Nutritional Products, Composição por kg de produto: Vit. A – 9000000 UI; Vit. D3 - 2500000 UI; Vit. E - 20000 UI; Vit. K3 – 2500 mg; Vit. B1 – 2000 mg; Vit. B2 – 6000 mg; Vit. B6–3000 mg; Vit. B12 – 15000µg; Ácido Nicotínico - 35 g; Ácido Pantotênico – 12 g; Biotina–100 mg; Ácido Fólico–1500 mg; Selênio – 250 mg.
[4]DSM Nutritional Products, Composição por kg de produto: Manganês - 160000 mg; Ferro - 100000 mg; Zinco - 100000 mg; Cobre - 20000 mg; Cobalto - 2000 mg; Iodo - 2000 mg
[5]Salinomicina 12%.

Os cortes histológicos foram analisados por imagens digitalizadas obtidas em aumentos de 100 vezes com o auxílio de um microscópio (BEL® B3 T) acoplado à câmera (BEL® Photonics IS500). As medidas foram realizadas pelo programa Image-Pro Plus (versão 4.5.0.29). Foram tomadas de cada amostra 20 medidas de altura de vilo (AV) e profundidade de cripta e calculada a relação altura de vilo/profundidade de cripta. Adicionalmente também foram mensuradas a largura dos vilos (LV) e criptas (LC) para o cálculo da quantidade de vezes que a superfície da amostra intestinal é aumentada devido às vilosidades em relação a uma superfície lisa (área de absorção), utilizando a seguinte fórmula (form. 2.1) (KISIELINSKI et al., 2002).

$$\text{Área de absorção} = \frac{\left((\text{LV x AV}) + \left(\frac{(\text{LV+LC})^2}{2}\right) - \frac{\text{LV}^2}{2}\right)}{\frac{(\text{LV+LC})^2}{2}} \qquad (2.1)$$

Adicionalmente foram feitas capturas de imagens utilizando o aumento de 400 vezes para realizar a contagem de células caliciformes em 20 vilos. Para isto, uma reta de 100 µm foi traçada no terço médio do vilo, realizando a contagem das células caliciformes presentes em ambos os lados da reta (Figura 1). Posteriormente, o número de células encontradas foi dividido por dois para obtermos o número de células caliciformes em 100 µm.

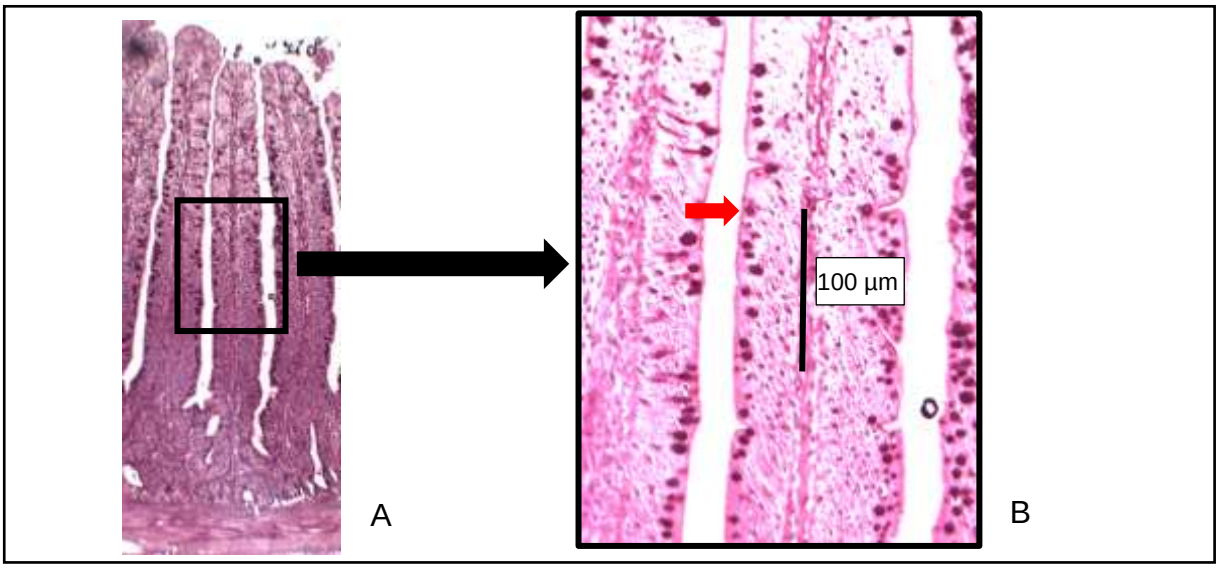

Figura 1 - Localização do terço médio do vilo em aumento de 100 vezes (A) e posterior contagem de células caliciformes (seta vermelha) em aumento de 400 vezes (B) no jejuno de frangos de corte aos 10 dias de idade

2.2.5 Avaliação da microbiota intestinal

2.2.5.1 Coleta das amostras

Três dias após a mudança das rações (10 dias de idade), cinco aves de cada unidade experimental do Bloco A (n=4) foram selecionas sem jejum prévio e eutanasiadas por deslocamento cervical. O trato gastrintestinal foi exposto e o intestino delgado e os cecos foram retirados, rapidamente armazenados em sacos plásticos e conservados em freezer -20°C. Aos 21 dias de idade, o mesmo procedimento de coleta foi realizando, entretanto, utilizando três aves de cada unidade experimental do Bloco A (n=4). Posteriormente, os intestinos foram descongelados e o conteúdo intestinal retirado ainda com as amostras geladas. Para isto, o intestino delgado foi separado dos cecos e o conteúdo de cada segmento retirado por meio de compressão das paredes intestinais. O conteúdo intestinal foi acondicionado em sacos plásticos, sendo cada amostra formada por um “pool” do conteúdo intestinal de cinco aves aos 10 dias e três aves aos 21 dias de idade. Cada pool foi cuidadosamente homogeneizado e armazenado em freezer -20°C.

2.2.5.2 Filtragem do conteúdo do intestino delgado e preparo das amostras

Com o objetivo de retirar a ração não digerida e aumentar a concentração de bactérias na amostra tornando-a mais representativa, as amostras do conteúdo do intestino delgado foram submetidas a filtragem para obtenção do pélete bacteriano (APAJALAHTI et al., 1998, adaptado). Utilizando o corpo de uma seringa estéril de 60 mL, foi construída coluna de filtragem composta de papel filtro qualitativo número 1 na porção inferior (dobrado em forma de funil), algodão estéril na porção intermediária e gazes abertas na porção superior, a qual foi colocada em garrafa autoclavada de 100 ml própria para centrifugação refrigerada (Figura 2).

Figura 2 - Estrutura da coluna de filtragem utilizada para filtrar o conteúdo do intestino delgado de frangos de corte

Uma amostra de 15 g do conteúdo do intestino delgado foi homogeneizada por um minuto em 50 mL de solução tampão (solução tampão de fosfato de sódio 50 mM, pH 8, e 0,1% de Tween 80). Este homogeneizado foi colocado na coluna de filtragem previamente umedecida com água deionizada autoclavada. A garrafa juntamente com a coluna e amostra foram centrifugados a 4500 g por 20 minutos, sob temperatura de 4 ºC. Após a centrifugação, a coluna de filtragem foi descartada, assim como o sobrenadante presente na garrafa. O pélete restante na garrafa foi ressuspenso em 1 mL de solução salina estéril (solução NaCl 0,9%) e toda a solução distribuída em tubos estéreis de 200 µL. Após centrifugação a 7500 × g por 10 minutos, o sobrenadante foi totalmente retirado com o auxílio de uma pipeta. Os tubos com as amostras foram pesados, tendo o peso do tubo descontado, e cada pélete bacteriano foi totalmente ressuspenso em solução peptonada refrigerada (1% peptone e 15% de glicerol em água) em proporção 1:10. As amostras foram então armazenadas em freezer a -20 ºC para posterior extração de DNA.

Devido a menor quantidade de ração não digerida e a alta concentração de bactérias presente nos cecos, a filtragem destas amostras não foi necessária. Entretanto, antes da extração de DNA, uma amostra de 3 g do conteúdo dos cecos foi homogeneizada em solução peptonada refrigerada, também em uma proporção de 1:10, e posteriormente armazenadas em freezer a -20 ºC.

2.2.5.3 Extração do DNA bacteriano

A extração do DNA bacteriano das amostras do conteúdo do intestino delgado e dos cecos foi realizada utilizando metodologia baseada em Lu et al. (2003). Primeiramente, as amostras foram devidamente descongeladas e homogeneizadas com o auxílio de vórtex. Um total de 500 µL da amostra foi transferido para novo tubo estéril e centrifugados a 10.000 rpm por 5 minutos, descartando-se o sobrenadante. Adicionou-se 250 µL da solução do tubo “bead” (UltraClean Soil DNA Isolation Kit, MoBio) ao pélete bacteriano, dissolvendo-o totalmente com auxílio de uma pipeta. Posteriormente, a solução foi totalmente transferida para o tubo “bead”, adicionando-se 60 µL da solução S1 e 200 µL da solução IRS (UltraClean Soil DNA Isolation Kit, MoBio). Para a lise mecânica das células bacterianas, a mistura foi agitada em vórtex por 40 minutos e posteriormente centrifugada a 10.000 rpm por 30 segundos. O sobrenadante foi transferido para novo tubo, sendo adicionados 25 µL da solução SDS (10%) e 2,5 µL de proteinase K, para lise enzimática. A solução foi

encubada a 37 ºC por 30 minutos e posteriormente centrifugada a 10.000 x g por 60 segundos. O sobrenadante foi novamente transferido para novo tubo, adicionando-se 500 µL de fenol-clorofórmio-isoamil álcool (25:24:1), agitando-se com o auxílio de vórtex e centrifugando-o a 10.000 rpm por cinco minutos. O sobrenadante foi transferido para novo tubo e repetiu-se o passo anterior por mais duas vezes, utilizando clorofórmio-isoamil álcool (24:1) na segunda vez. Em um novo tubo, 8 µL de RNAse (RNAse-DNA free, Roche®) foram adicionados ao sobrenadante, sendo a solução novamente incubada a 37 ºC por 15 minutos, para a lise de RNA.

Ao final da incubação, o DNA foi concentrado com 250 µL de isopropanol e centrifugado a 13.500 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante descartado. O pélete de DNA formado no fundo do tubo foi então lavado por duas vezes com 500 µL de álcool etílico 70% e 100%, respectivamente, seguido de centrifugação a 13.000 rpm por cinco minutos e descarte do sobrenadante. Ao final do processo, o DNA oriundo de amostras do conteúdo do intestino delgado e cecos foram ressuspensos em 20 µL e 50 µL água molecular (Nuclease free water), respectivamente. As amostras de DNA foram armazenadas “overnight” a 4 ºC e posteriormente armazenado a -20 ºC até a realização do sequenciamento genético.

2.2.5.4 Amplificação e sequenciamento do gene 16S rRNA

Antes de iniciar a amplificação, as amostras de DNA foram quantificadas utilizando o equipamento NanoDrop®. As regiões V3 e V4 do gene 16S rDNA foram amplificadas via PCR utilizando-se para a reação 10X PCR Buffer, cloreto de magnésio ($MgCl^2$ - 50mM), dNTP’s (10mM), Taq Polimerase (5U/µL) e os primers bacterianos Forward (5’TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTAC GGGNGGCWGCAG) e Reverse (5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGA CAGGACTACHVGGGTATCTAATCC). A reação de PCR foi iniciada com desnaturação inicial a 95 ºC por três minutos, seguidos de 25 ciclos de desnaturação a 95 ºC, anelamento a 57 ºC e extensão a 72 ºC, tendo cada etapa duração de 30 segundos. A extensão final foi conduzida a 72 ºC por cinco minutos. O produto da reação foi então purificado com Agencourt AMpureXP (Beckman Coulter) de acordo com instruções do Illumina.

Para a reação da segunda PCR foram utilizados 5 µL do produto da primeira PCR, 5 µL de cada adaptador (dois adaptadores para cada amostra), 25 µL do Kit KAPA Biosystem e 10 µL de água. As condições utilizadas para esta reação de PCR

foram: 95 ºC por 3 minutos, seguido de 12 ciclos de 95 ºC por 30 segundos, 55 ºC por 30 segundos e 72 ºC por 30 segundos, e extensão final de 72 ºC por cinco minutos.

As bibliotecas foram normalizadas para uma mesma concentração, sendo 10 ng para amostras do intestino delgado e 6 ng para amostras dos cecos. Após esse procedimento, utilizaram-se 4 µL de cada biblioteca normalizada para se fazer um “pool”, o qual foi quantificado em tempo real para determinação da real concentração da biblioteca. O sequenciamento foi realizado utilizando o MiSeq Reagent Kit V2 (500 ciclos) por meio do equipamento MiSeq Illumina. O produto foi analisado pelo software MiSeq Reporter, na opção Metagenomics do próprio Illumina, para se obter o sequenciamento das amostras.

2.2.5.5 Bioinformática

A classificação taxonômica foi realizada com o auxílio do aplicativo 16S Metagenomics (Illumina), utilizando o classificador algoritmo naïve Bayesian e a base de dados GreenGenes (2013). Adicionalmente, também foram realizadas análises de coordenadas principais (PCoA) e dendrograma de agrupamento hierárquico. A diversidade da microbiota foi avaliada por meio do índice de Shannon.

2.2.6 Ensaio de metabolizabilidade

Aos 7 dias de idade, exatamente junto à mudança da ração, foi iniciada a coleta total de excretas por um período de cinco dias, utilizando-se óxido de ferro 1% na ração para determinar o início e término das coletas (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007). As coletas foram realizadas sempre ao início da manhã e ao final da tarde, tendo o cuidado de retirar penas e ração que eventualmente tenham caído nas excretas. As mesmas foram armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados em freezer a -20 ºC. Ao final dos cinco dias de coleta, foram anotados os valores de ração consumida e excretas produzidas. As amostras de excretas foram homogeneizadas e pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 60 ºC por 72 horas. Após este processo, as amostras de excreta e ração foram enviadas para laboratório para análise de matéria seca final, energia bruta e nitrogênio. A partir dos resultados, foram calculados os valores de energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e

coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMMS). O mesmo procedimento foi repetido com as aves no período de 17 e 21 dias de idade.

2.2.7 Análise estatística

Os dados referentes ao desempenho das aves, epitélio jejunal e ensaio de metabolismo foram submetidos a análise de variância (5%) e comparação de médias por meio de teste de Tukey. O Proc Mixed foi utilizado, sendo bloco considerado um efeito aleatório. Entretanto, para análise do desempenho no período de sete a 10 dias, o peso aos sete dias foi utilizado como covariável. Além disso, os dados de ensaio de metabolismo foram analisados em esquema fatorial 5 × 2 (cinco dietas e duas idades).

Os dados referentes a microbiota intestinal também foram analisados em esquema fatorial 5 × 2, porém, estes dados não possuem o efeito bloco, sendo, portanto, analisados por meio do Proc Glm. Complementarmente, foi realizado teste para os seguintes contrastes:

- Troca do grão (1): M100% e S100% vs. PS-M e PM-S;
- Tipo de grão na ração pré-inicial (2): M100% e PM-S vs. S100% e PS-M;
- Tipo de grão utilizado após a ração pré-inicial (3): M100% e PS-M vs. S100% e PM-S.

Todos os dados foram inicialmente submetidos à verificação da homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos para a correta aplicação de testes estatísticos paramétricos. Parte dos dados referentes a microbiota intestinal foram transformados para atender estes pressupostos. O software estatístico SAS 9.4 foi utilizado para realização das análises (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 As diferentes estratégias de substituição do milho pelo sorgo não influenciaram o desempenho e a mucosa intestinal dos frangos de corte nem a metabolizabilidade das rações

Durante os sete primeiros dias de vida, os pintainhos foram alimentados com ração à base de milho (r=16), sorgo (r=16) ou 50% milho e 50% sorgo (r=8). Entretanto, as rações não influenciaram o consumo de ração, peso vivo, ganho de peso e a conversão alimentar, os quais tiveram médias de 135 g, 165 g, 120 g e

1,135, respectivamente (Tabela 3). Esta informação possui grande importância, visto que existe uma alta correlação entre o peso vivo dos pintainhos aos sete dias de idade e o peso vivo ao abate (NITSAN, 1995). Deste modo, o sorgo pode substituir total ou parcialmente o milho em rações pré-iniciais sem alterar o desempenho dos pintainhos neste período (TORRES et al., 2013).

Tabela 3 - Desempenho de pintainhos de um a 7 dias de idade alimentados com ração a base de milho, sorgo ou 50% milho e 50% sorgo (Milho:Sorgo)

	Milho	Sorgo	Milho:Sorgo	CV (%)	Pvalor
Consumo de ração (g)	138	135	135	15,80	0,3220
Peso vivo (g)	167	164	165	10,56	0,3996
Ganho de peso (g)	122	118	120	14,00	0,2577
Conversão alimentar	1,146	1,137	1,122	3,42	0,3156

A partir do oitavo dia de idade, as rações foram oferecidas de acordo com as dietas experimentais. O desempenho das aves no período de três dias após o início das dietas experimentais foi avaliado, no entanto, nenhuma alteração no desempenho foi encontrada (Tabela 4). Portanto, a troca brusca entre rações à base de milho e sorgo, não influenciou o desempenho destas aves logo após a mudança.

Tabela 4 - Desempenho de pintainhos de oito a 10 dias de idade alimentados com as dietas experimentais (r=8)

	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	CV (%)	Pvalor
Consumo de ração (g)	131	131	135	128	133	7,62	0,3361
Ganho de peso (g)	102	99	103	97	100	12,53	0,4740
Conversão alimentar	1,290	1,308	1,313	1,337	1,346	6,12	0,4164

Após o início das dietas experimentais, o desempenho dos frangos de corte foi avaliado semanalmente e não foi influenciado pelas diferentes formas do uso de sorgo (Tabela 5). Aos 40 dias de idade, as médias do consumo de ração, peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar foram respectivamente de 4.777 g, 3.135 g, 3.090 g e 1,563. As dietas também não influenciaram a viabilidade dos frangos de corte (P=0,1210), tendo do um valor médio de 96,50% (valores não apresentados).

Tabela 5 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) semanais de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais (r=8)

			1 a 14 dias de idade				
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	CV (%)	Pvalor
CR (g)	542	575	554	543	552	10,78	0,4384
PV (g)	478	466	478	462	479	8,71	0,1724
GP (g)	432	421	432	417	437	9,44	0,1351
CA	1,286	1,311	1,283	1,305	1,283	2,45	0,2758
			1 a 21 dias de idade				
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	CV (%)	Pvalor
CR (g)	1271	1256	1279	1262	1268	6,98	0,7527
PV (g)	1026	1016	1024	1010	1028	6,27	0,6881
GP (g)	980	970	979	964	986	6,47	0,6100
CA	1,316	1,300	1,312	1,312	1,295	1,76	0,2920
			1 a 28 dias de idade				
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	CV (%)	Pvalor
CR (g)	2339	2318	2328	2313	2332	5,46	0,8554
PV (g)	1763	1745	1757	1740	1759	4,20	0,7554
GP (g)	1717	1699	1712	1695	1716	4,24	0,7219
CA	1,377	1,374	1,369	1,369	1,382	2,20	0,8636
			1 a 35 dias de idade				
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	CV (%)	Pvalor
CR (g)	3670	3655	3668	3647	3665	4,27	0,9679
PV (g)	2561	2554	2571	2538	2567	3,04	0,7065
GP (g)	2514	2508	2525	2493	2525	3,05	0,6590
CA	1,470	1,466	1,461	1,465	1,472	1,76	0,8560
			1 a 40 dias de idade				
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	CV (%)	Pvalor
CR (g)	4796	4745	4775	4773	4794	3,87	0,8681
PV (g)	3129	3118	3147	3119	3164	2,64	0,4769
GP (g)	3082	3072	3100	3073	3122	2,65	0,3966
CA	1,564	1,565	1,568	1,559	1,559	1,99	0,9844

Os resultados mostram que a substituição total ou parcial de milho por sorgo não altera o desempenho das aves, assim como a mudança do tipo de grão após a fase pré-inicial. Porém, é necessário salientar que devido às diferenças nutricionais destes grãos, o correto ajuste dos nutrientes das rações deve ser realizado, com o objetivo de se obterem rações isoenergéticas e isoprotéicas, assim como os níveis dos principais aminoácidos (metionina + cistina, lisina e treonina digestíveis). Neste estudo, os nutrientes foram ajustados e a porcentagem de inclusão dos grãos não foi fixada. Outras pesquisas estudaram a substituição de milho por sorgo com a mesma porcentagem de inclusão, também realizando o ajuste nutricional, não observando alterações no desempenho destas aves aos 42 dias (GARCIA et al., 2005; TORRES et al., 2013). Por outro lado, alguns trabalhos mostram melhorias no desempenho

aos 42 dias quando o milho foi substituído em 50% por sorgo (TORRES et al., 2013) ou em sua substituição total utilizando rações com os grãos incluídos em diferentes porcentagens (SILVA et al., 2015). Porém, outras pesquisas mostraram uma piora na conversão alimentar de frangos alimentados com sorgo (LUNEDO et al., 2014). Outro recente estudo testou a substituição total do milho por sorgo sem os devidos ajustes nutricionais e não encontraram diferenças no desempenho (TANDIANG et al., 2014). Porém, a substituição sem o correto ajuste nutricional deve ser evitada. Deste modo, fica confirmado que o sorgo pode substituir o milho de maneira parcial ou total, assim como sua troca pode ser após a fase pré-inicial, sem prejudicar o desempenho dos frangos de corte aos 40 dias de idade.

Entretanto, a substituição total do milho pelo sorgo provocou uma menor pigmentação das canelas e dos bicos dos frangos de corte (Figura 3), como já observado em outros estudos (BORNSTEIN; BARTOV, 1967; MATEO; CARANDANG, 2006). Isto ocorre devido à baixa quantidade do pigmento xantofila presente no sorgo (apenas 10% do total presente no milho), pigmento este responsável pela coloração amarelada das carcaças de frangos (BLESSIN, 1962).

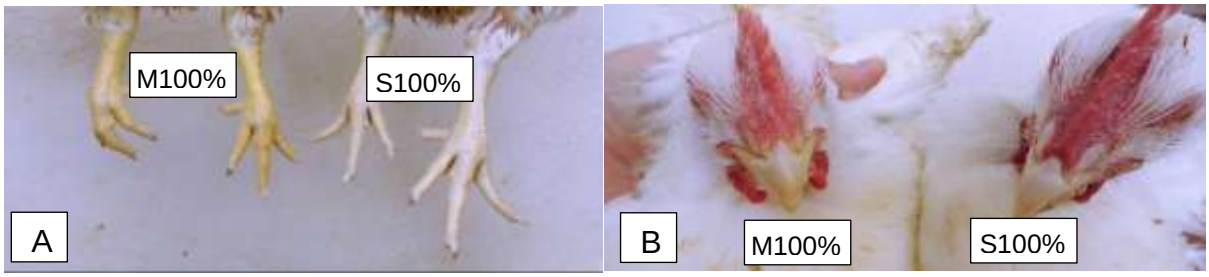

Figura 3 - Pigmentação das canelas (A) e bicos (B) de frangos de corte alimentados com M100% e S100%

As dietas experimentais utilizando milho ou sorgo e suas combinações não alteraram os vilos (altura, largura e número de células caliciformes), profundidade de criptas, relação vilo:cripta e área de absorção do jejuno de frangos de corte aos 10 dias de idade (Tabela 6). Os dados comprovam que a substituição do milho por sorgo não provocou alteração morfológicas no epitélio jejunal, assim como em outros estudos (SHAKOURI et al., 2009). Entretanto, um estudo mostrou maior índice mitótico nas criptas de frangos alimentados com sorgo, sem alteração na altura de vilos e profundidade de criptas, apresentando perda epitelial (TORRES et al., 2013). Da mesma maneira, a mudança brusca do tipo de grão na dieta não provocou

alterações morfológicas no epitélio jejunal, visto que estas mensurações foram realizadas três dias após a mudança das rações.

Tabela 6 - Altura (A), largura (L) e número de células caliciformes (CC) dos vilos, profundidade (P) da cripta, relação vilo:cripta e área de absorção do jejuno de frangos de corte alimentados com milho e/ou sorgo aos 10 dias idade (r=8)

	Vilos			Cripta	Vilo:Cripta	Área de absorção
	A (µm)	L (µm)	CC (100 µm)	P (µm)		
M100%	742	169	12,9	177	4,29	14,4
S100%	801	165	12,8	202	4,24	16,3
M:S50%	684	170	12,8	222	3,45	13,4
PS-M	690	146	12,1	192	3,81	15,2
PM-S	765	152	12,2	194	4,19	16,1
CV (%)	13,45	15,92	19,80	24,35	31,94	17,30
Pvalor	0,0694	0,3371	0,9830	0,3471	0,5206	0,1313

Não houve interação entre dieta e idade dos frangos de corte sobre os valores de EMA, EMAn e CMMS das rações (Tabela 7). A substituição do milho pelo sorgo de acordo com as dietas experimentais não influenciou as variáveis estudadas nos experimentos de metabolismo. Entretanto, maiores valores de EMA, EMAn e CMMS das rações foram observadas em frangos de corte entre 17 a 21 dias de idade.

Os valores de energia metabolizável e CMMS das rações também não foram influenciados pelo uso de milho ou sorgo em outros estudos (SHAKOURI et al., 2009). A semelhança destes valores energéticos entre as dietas com mudanças de grãos, assim como o valor de CMMS, mostram que a alteração brusca da mudança de grão não gerou prejuízos na metabolizabilidade das rações. Porém, estudo mostrou um aumento no peso vivo e ganho de peso de frangos alimentados com mudanças periódicas dos ingredientes alimentares da ração, sem, no entanto, avaliarem a metabolizabilidade das rações (MILTENBURG et al., 1993). Porém, este efeito não foi observado neste estudo.

Tabela 7 - Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMMS), na base seca, das dietas experimentais para frangos de corte nos períodos de oito a 12 dias e 17 a 21 dias de idade (r=10)

		EMA (kcal/kg)	EMAn (kcal/kg)	CMMS (%)
Dieta	M100%	3531	3317	72,89
	S100%	3518	3309	72,18
	M:S50%	3487	3275	72,19
	PS-M	3554	3331	73,83
	PM-S	3546	3335	72,38
Idade (dias)	8 a 12	3387b	3190b	69,88b
	17 a 21	3666a	3437a	73,27a
CV (%)		5,00	4,82	4,97
Pvalor	Dieta	0,4593	0,5206	0,2097
	Idade	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Dieta*Idade	0,2283	0,2212	0,6985

Médias com diferentes letras na mesma coluna diferem significantemente (P<0,05)

2.3.2 A substituição de milho por sorgo em suas diferentes estratégias é capaz de alterar a microbiota intestinal de frangos de corte

No intestino delgado, dentre os 25 filos encontrados, os mais frequentes foram Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes e Cyanobacteria, representando mais de 99,6% das bactérias presentes neste segmento intestinal (Tabela 8). Não foram observadas interações entre dieta e idade nem influência das diferentes dietas testadas sobre a porcentagem destes filos. Entretanto, foi observada diminuição da porcentagem do filo Cyanobacteria com a idade.

Entre as 53 classes de bactérias encontradas, as cinco maiores foram Bacilli, Clostridia, Actinobacteria, Gammaproteobacteria e Alphaproteobacteria, representando 99,1% do total, não sendo observadas interações entre dieta e idade para estas classes (Tabela 9). Frangos de corte alimentados com a dieta PM-S apresentaram maior porcentagem de Bacilli do que aqueles alimentados com M100%, sendo que a utilização das demais dietas resultaram em níveis intermediários desta classe de bactéria. Os contrastes testados para a classe Bacilli, em que foram comparadas diferentes cominações de dietas, não apontaram efeito significativo.

Tabela 8 - Porcentagem dos principais filos de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Filo	Dieta					Idade (dias)		Pvalor		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI
Firmicutes	91,558	92,890	90,695	90,399	91,621	91,553	91,312	0,9152	0,8955	0,7059
Actinobacteria	7,550	6,406	8,321	8,787	7,643	7,645	7,838	0,6937	0,6776	0,7959
Proteobacteria	0,431	0,366	0,591	0,288	0,377	0,400	0,422	0,1434	0,5428	0,4841
Bacteroidetes	0,037	0,063	0,062	0,084	0,042	0,060	0,055	0,5186	0,9930	0,8353
Cyanobacteria	0,019	0,014	0,018	0,012	0,020	0,022a	0,011b	0,0872	<0,0001	0,0668

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 9 - Porcentagem das principais classes de bactérias presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Classe	Dieta					Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2	3
Bacilli	60,469b	68,816ab	67,038ab	65,566ab	79,253a	57,865b	78,592a	0,0400	<0,0001	0,2940	0,1932	0,6713	0,0658
Clostridia	30,909	23,913	23,407	24,669	12,227	33,501a	12,549b	0,0681	<0,0001	0,5696	..	..	..
Actinobacteria	7,453	6,378	7,845	8,691	7,550	7,560	7,607	0,7547	0,7468	0,7878	..	..	..
Gammaproteobacteria	0,173	0,116	0,293	0,101	0,158	0,173	0,163	0,0459*	0,7713	0,7475	0,6416	0,0708	0,5675
Alphaproteobacteria	0,104	0,094	0,139	0,083	0,065	0,101	0,093	0,1829	0,6631	0,3791	..	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Teste de Tukey não detectou diferenças entre as médias

[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

As ordens Lactobacillales, Clostridiales, Bacillales, Actinomycetales, Turicibacterales, Enterobacteriales, Burkholderiales, Rhizobiales, Pseudomonadales e Rubrobacterales representam 95,4% das ordens de bactérias, entre as 106 encontradas (Tabela 10). Houve interação entre dieta e idade para a ordem Turicibacterales, sendo que somente em aves alimentadas com as dietas M100% e S100% houve um aumento na porcentagem desta ordem com a idade (Tabela 11). Aos 10 dias de idade as dietas não influenciaram a porcentagem de Turicibacterales, mas aos 21 dias de idade aves alimentadas com S100% apresentaram maior nível desta ordem que aquelas alimentadas com as demais dietas. Devido à grande porcentagem de Turicibacterales encontrada na dieta S100%, os três diferentes contrastes foram significativos, sempre sendo maior naquele em que esta dieta está presente. As diferentes dietas não influenciaram as demais ordens, porém foi observada redução da porcentagem de Clostridiales e aumento de Bacillales com a idade.

As famílias Lactobacillaceae, Clostridiaceae, Enterococcaceae, Staphylococcaceae, Corynebacteriaceae, Lachnospiraceae, Leuconostocaceae, Peptostreptococcaceae, Aerococcaceae e Dermabacteraceae representaram 85,8% das bactérias presentes no intestino delgado dos frangos de corte e estão entre as 238 famílias encontradas (Tabela12). Interação entre dieta e idade foi observada para a família Peptostreptococcaceae, onde apenas frangos alimentados com S100% apresentaram um aumento da porcentagem desta família com a idade (Tabela 13). As dietas não influenciaram esta família aos 10 dias de idade, mas aos 21 dias de idade aves alimentadas com S100% apresentaram cerca de 13 vezes mais Peptostreptococcaceae do que aves alimentadas com as demais dietas, o que provavelmente influenciou a significância dos três contrastes avaliados. A porcentagem da família Clostridiaceae foi influenciada pela dieta, sendo maior em aves alimentadas com M100% do que nas aves alimentadas com PM-S, não havendo diferença entre as demais dietas. Aves alimentadas com M100% e M:S50% apresentaram maior porcentagem de Leuconostocaceae do que aves alimentadas com S100%, não apresentando diferenças para as demais dietas. Os contrastes avaliados não foram significativos para ambas as famílias de bactérias. O aumento da idade levou a uma diminuição na porcentagem das famílias Clostridiaceae, Enterococcaceae, Staphylococcaceae e Lachnospiraceae e a um aumento nas porcentagens de Lactobacillaceae, Leuconostocaceae e Aerococcaceae.

Tabela 10 - Porcentagem das principais ordens de bactérias presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Ordem	Dieta					Idade (dia)		Pvalor		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI
Lactobacillales	44,707	62,646	54,694	55,315	64,706	53,103	59,724	0,1247	0,1955	0,4456
Clostridiales	30,810	23,832	23,299	24,602	12,192	33,418a	12,476b	0,0685	<0,0001	0,5666
Bacillales	6,546	5,400	12,107	7,314	8,722	4,591b	11,444a	0,2847	0,0004	0,4703
Actinomycetales	7,437	6,369	7,817	8,673	7,548	7,536	7,601	0,7577	0,7332	0,7857
Turicibacterales	0,033	0,865	0,066	0,069	0,039	0,047	0,381	0,0250	0,0117	0,0346
Enterobacteriales	0,083	0,054	0,132	0,059	0,091	0,074	0,094	0,2584	0,4578	0,3969
Burkholderiales	0,095	0,053	0,098	0,054	0,080	0,071	0,080	0,6568	0,4167	0,6917
Rhizobiales	0,060	0,044	0,060	0,052	0,024	0,048	0,047	0,0856	0,9043	0,2904
Pseudomonadales	0,047	0,026	0,058	0,017	0,021	0,034	0,034	0,1147	0,9813	0,5559
Rubrobacterales	0,046	0,025	0,029	0,015	0,046	0,024	0,040	0,4007	0,1943	0,9006

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 11 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem da ordem Turicibacterales presente no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Idade	Dieta					Pvalor	Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S		1	2	3
10 dias	0,018B	0,045B	0,084	0,050	0,038	0,7483	..	..	..
21 dias	0,047bA	1,685aA	0,048b	0,088ab	0,039b	0,0033	0,0137	0,0048	0,0178
Pvalor	0,04132	0,0002	0,9822	0,6126	0,6493				

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) diferentes na linha (coluna) se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

Tabela 12 - Porcentagem das principais famílias de bactérias presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Gênero	Dieta					Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2	3
Lactobacillaceae	29,579	45,312	33,761	38,293	43,717	29,223b	48,042a	0,3842	0,0022	0,5522	..	..	..
Clostridiaceae	25,094a	16,888ab	15,218ab	21,558ab	9,479b	27,593a	7,702b	0,0264	<0,0001	0,4680	0,3074	0,5209	0,0801
Enterococcaceae	10,594	11,363	9,036	12,776	11,653	16,796a	5,374b	0,8422	<0,0001	0,1399	..	..	..
Staphylococcaceae	8,757	4,844	10,797	8,696	7,488	3,536a	12,696b	0,5164	<0,0001	0,5473	..	..	..
Corynebacteriaceae	2,762	2,814	4,468	5,104	3,485	3,506	3,947	0,2998	0,5401	0,5533	..	..	..
Lachnospiraceae	2,775	1,619	1,380	1,332	1,502	2,272a	1,171b	0,4976	0,0041	0,5994	..	..	..
Leuconostocaceae	1,730a	0,606b	2,509a	0,904ab	1,882ab	0,396b	2,656a	0,0060	<0,0001	0,5931	0,8550	0,1549	0,2651
Peptostreptococcaceae	0,751	4,510	0,236	0,847	0,507	0,473	2,267	0,0036	0,0033	0,0044	..	..	..
Aerococcaceae	1,269	0.838	1.051	1,301	0,945	0,864b	1,298a	0,7497	0,0471	0,4350	..	..	..
Dermabacteraceae	0,859	0,558	0,776	1,167	1,273	0,800	1,053	0,3531	0,4187	0,5487	..	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

Tabela 13 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem da família Peptostreptococcaceae presente no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Idade	Dietas					Pvalor	Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S		1	2	3
10 dias	0,894	0,347B	0,220	0,416	0,492	0,6031	..	..	-
21 dias	0,609b	8,673aA	0,253b	1,278b	0,523b	0,0002	0,0090	0,0022	0,0286
Pvalor	0,7091	<0,0001	0,9846	0,1460	0,9468				

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) diferentes na linha (coluna) se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

Foram encontrados 653 diferentes gêneros de bactérias e os 20 principais gêneros corresponderam a 86,3% do total de bactérias encontradas no intestino delgado de frangos de corte (Tabela 14). Dentre eles, foi detectada interação entre dieta e idade apenas o gênero *Alkaliphilus*. Este gênero não foi influenciado pela dieta aos 10 dias de idade, entretanto, aos 21 dias aves alimentadas S100% apresentaram maior porcentagem deste gênero que aquelas alimentadas com M100% e M:S50% (Tabela 15). Apenas em aves alimentadas com S100%, o gênero *Alkaliphilus* aumentou com a idade. Maior porcentagem de *Clostridium* foi observada em aves alimentadas com M100% e PS-M em comparação àquelas alimentadas com PM-S, não apresentando diferenças entre as demais dietas. O gênero *Weissella* também foi influenciado pela dieta, sendo que a utilização de dietas M100% e M:S50% resultou em maior porcentagem deste gênero em comparação a utilização de S100%. Aves alimentadas com S100% apresentaram menor porcentagem de *Bacillus* que aquelas alimentadas com as demais dietas. O aumento da idade resultou em um aumento nas porcentagens de *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Weissella*, *Brevibacterium*, *Streptococcus* e *Turicibacter* e uma diminuição nos gêneros *Clostridium*, *Enterococcus*, *Blautia*, *Aerococcus* e *Ruminococcus.* Nem a dieta nem a idade alteraram a riqueza das bactérias, avaliada pelo Índice de Shannon.

Estes resultados comprovam a influência da dieta e da idade das aves sobre a microbiota intestinal, assim como observado em outros estudos (TOROK et al., 2011; TOROK et al., 2007). Neste estudo, a classificação até espécie não foi avaliada, visto que mais da metade dos gêneros não são classificados até espécie por meio do sequenciamento genético do gene 16S rRNA. Entretanto, sabe-se que dentro de um mesmo gênero podem existir espécies patogênicas ou não, sendo necessária maior cuidado na discussão dos resultados.

O gênero *Clostridium* é um grupo bastante heterogêneo composto por bactérias gram-positivas anaeróbicas, formadoras de esporos, possuindo espécies de importância para saúde e fisiologia animal e humana, degradação de celulose, produção de solventes e biorremediação (PAREDES et al., 2005). Pertencente ao filo Firmicutes, classe Clostridia e ordem Clostridiales, o gênero *Clostridium* pode ser oriundo de duas diferentes famílias, Clostridiaceae e Peptostreptococcaceae (LUDWIG et al., 2009). Isso ocorre devido à melhor compreensão da proximidade evolucionária das espécies bacterianas com o avanço da tecnologia, sendo sugerida

a criação de novos gêneros na tentativa de solucionar estes problemas taxonômicos (YUTIN; GALPERIN, 2013). Neste estudo, um dos principais efeitos encontrados foi a diminuição do gênero *Clostridium* em aves com mudança brusca de milho para sorgo após a fase pré-inicial. A espécie *Clostridium perfringens* é o patógeno mais importante deste gênero para aves por ser responsável pela enterite necrótica, resultando em prejuízos econômicos à avicultura industrial (TIMBERMONT et al., 2011). Estudos sobre a substituição do milho por sorgo apresentam resultados desde a não influência do sorgo sobre estas bactérias (SHAKOURI et al., 2009) até mesmo a sua diminuição com a substituição total pelo sorgo (TORRES, 2010), resultado este coerente ao encontrado em nossa pesquisa. Esta redução do *C. perfringens* em aves alimentadas com sorgo é provavelmente devido aos taninos hidrolisáveis presentes no sorgo, compostos estes que quando extraídos de castanhas possuem efeito antimicrobiano sobre esta espécie (ELIZONDO et al., 2010; TOSI et al., 2013), podendo o mesmo acontecer com os taninos hidrolisáveis do sorgo.

Outro gênero influenciado pela dieta foi o *Weissella,* representado por bactérias gram-positivas conhecidas como bactérias ácido láticas, produzindo CO_2 a partir do metabolismo de carboidratos, existindo cepas com potencial probiótico e outras sendo patogênicas oportunistas (FUSCO et al., 2015). Em sua taxonomia, o gênero *Weissella* é pertencente ao filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Lactobacillales e família Leuconostocaceae. Nesta pesquisa, apenas a substituição completa de milho por sorgo levou a uma redução do gênero *Weissella* e da família Leuconostocaceae, não sendo este efeito observado nas classificações taxonômicas anteriores. Menor abundância de *Weissella confusa* nos cecos pode estar associado a condições de desequilíbrio da microbiota intestinal, como no caso de aves com enterite necrótica (STANLEY et al., 2012), podendo a redução deste gênero com o uso de sorgo ser negativa.

O gênero *Alkaliphilus* (filo Firmicutes, classe Clostridia, ordem Clostridiales, família Clostridiaceae) foi maior apenas no intestino delgado de aves aos 21 dias de idade quando alimentadas com S100%. Por outro lado, o gênero Bacillus (filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Bacillales, família Bacillaceae) foi menor em aves alimentadas com dieta S100%. Estes resultados em conjunto confirmam que as substituições do milho pelo sorgo, assim como a mudança brusca do tipo de grão na ração, exercem influência sobre a microbiota intestinal.

Tabela 14 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias encontrados no intestino delgado de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Gênero	Dieta					Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2	3
Lactobacillus	29,050	44,866	33,108	37,772	42,999	27,629b	47,489a	0,4162	0,0048	0,5448	..	..	..
Clostridium	24,717a	17,304ab	14,421ab	21,479a	9,070b	27,164a	7,632b	0,0288	<0,0001	0,4620	0,2648	0,4180	0,0878
Enterococcus	10,410	11,173	8,819	12,563	11,444	16,543a	5,220b	0,8388	<0,0001	0,1420	..	..	..
Staphylococcus	7,724	4,143	9,679	7,309	5,935	2,617b	11,299a	0,5253	<0,0001	0,5098	..	..	..
Corynebacterium	2,762	2,814	4,468	5,104	3,485	3,506	3,947	0,2998	0,5401	0,5533	..	..	..
Weissella	1,700a	0,581b	2,469a	0,873ab	1,821ab	0,370b	2,608a	0,0048	<0,0001	0,6768	0,8816	0,1337	0,2631
Alkaliphilus	0,648	3,572	0,607	0,751	0,766	0,590	1,948	0,0422	0,0075	0,0061	..	..	..
Blautia	1,581	0,661	1,049	0,989	1,177	1,428a	0,754b	0,4049	0,0072	0,6533	..	..	..
Jeotgalicoccus	0,992	0,569	0,822	1,184	1,226	0,798	1,119	0,3682	0,3644	0,5202	..	..	..
Brachybacterium	0,859	0,558	0,776	1,167	1,273	0,800	1,052	0,3531	0,4187	0,5487	..	..	..
Brevibacterium	0,755	0,363	0,886	0,958	1,207	0,588b	1,079a	0,1812	0,0441	0,3821	..	..	..
Facklamia	0,554	0,523	0,578	0,874	0,599	0,650	0,601	0,6641	0,6931	0,5026	..	..	..
Faecalibacterium	0,756	0,472	0,592	0,529	0,393	0,581	0,515	0,9994	0,9929	0,2838	..	..	..
Aerococcus	0,671	0,300	0,446	0,377	0,322	0,186a	0,660b	0,7674	<0,0001	0,4387	..	..	..
Dietzia	0,266	0,258	0,407	0,291	0,294	0,337	0,269	0,3728	0,2480	0,7805	..	..	..
Ruminococcus	0,275	0,432	0,232	0,238	0,238	0,412a	0,154b	0,5535	0,0079	0,1629	..	..	..
Pediococcus	0,305	0,253	0,245	0,302	0,215	0,279	0,250	0,7956	0,5964	0,9045	..	..	..
Streptococcus	0,265	0,682	0,130	0,084	0,261	0,061b	0,508a	0,9610	0,0081	0,3491	..	..	..
Turicibacter	0,033	0,865	0,066	0,069	0,192	0,047b	0,443a	0,0614	0,0043	0,0578	..	..	..
Bacillus	0,288a	0,108b	0,256a	0,299a	0,289a	0,253a	0,243	0,0126	0,9490	0,4453	0,0273	0,0324	0,0596
Índice de Shannon	1,905	1,669	1,965	1,870	1,734	1,822	1,835	0,6137	0,9204	0,6013	..	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

Tabela 15 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem do gênero *Alkaliphilus* presente no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Idade	Dieta					Pvalor	Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S		1	2	3
10 dias	0,782	0,491B	0,813	0,369	0,493	0,9077	..	..	..
21 dias	0,514b	6,653aA	0,401b	1,134ab	1,039ab	0,0009	0,3267	0,2790	0,2313
Pvalor	0,9795	<0,0001	0,3826	0,1166	0,3350				

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) diferentes na linha (coluna) se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S) .

81

Foi observado o agrupamento das amostras da microbiota do intestino delgado em dois grandes “clusters” (Figura 4-A). O primeiro é formado essencialmente por amostras de microbiota de frangos de corte aos 10 dias de idade e possui como característica geral uma alta porcentagem do gênero *Clostridium*. Neste grupo, duas amostras apresentaram menor similaridade que as demais, apresentando predominância do gênero *Enterococcus*. O segundo cluster é formado por amostras de microbiota do intestino delgado de frangos de corte aos 21 dias de idade e tem como característica a presença de maior porcentagem do gênero *Lactobacillus*. Porém, quatro amostras de diferentes tratamentos apresentaram menor similaridade em relação às demais amostras deste grupo por apresentarem um predomínio de bactérias do gênero *Staphylococcus*. Duas amostras de microbiota aos 10 dias de idade que possuem predominância de *Lactobacillus* em relação ao *Clostridium* também fazem parte deste grupo. De maneira geral, a similaridade das amostras de mesmo tratamento não foi maior do que a similaridade observada entre tratamentos.

Do mesmo modo, foi observada menor distância entre as amostras de microbiota do intestino delgado quando estas eram oriundas de aves da mesma idade, tendo uma maior distância da microbiota entre as duas idades (Figura 4-B). As amostras de microbiota de aves aos 10 dias de idade apresentaram valores negativos de PCoA 1 e valores em torno de zero de PCoA 2. Por outro lado, as amostras de microbiota de aves aos 21 dias de idade apresentaram valores positivos de PCoA 1 e valores em torno de zero ou negativos de PCoA 2. Entretanto, não foram observadas diferenças entre as distâncias em relação às diferentes dietas, estando estas distribuídas aleatoriamente por entre as demais amostras de microbiotas de aves da mesma idade.

Estes resultados indicam que as diferentes maneiras de utilização de milho e/ou sorgo não tiveram influência na estrutura da microbiota. Por outro lado, a idade teve grande influência, tendo a microbiota de aves da mesma idade maior similaridade e menor distância entre si.

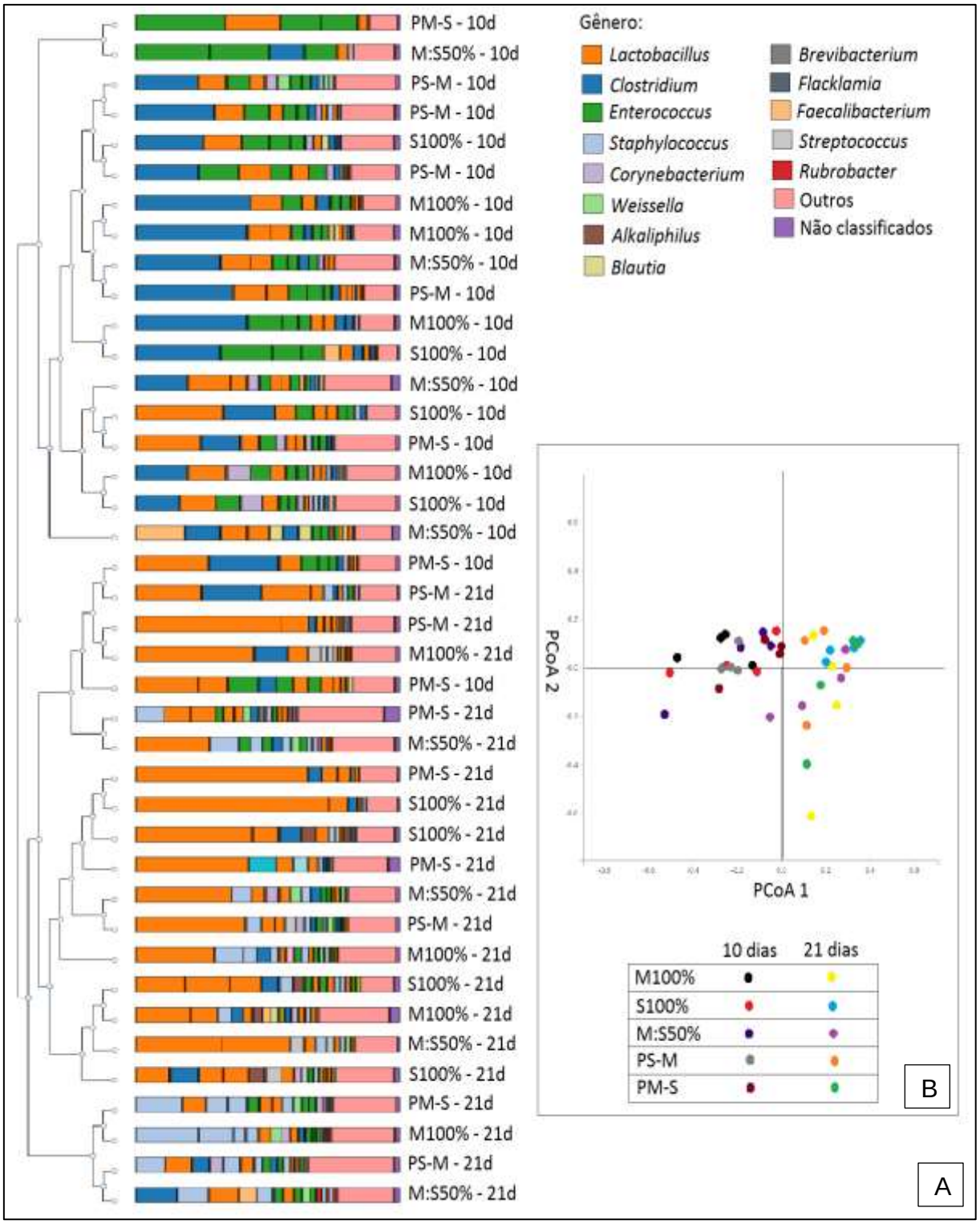

Figura 4 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias do intestino delgado de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de milho e/ou sorgo

Dentre os 23 filos encontrados, Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria e Tenericutes foram os mais frequentes nos cecos dos frangos de corte e juntos representaram 98% das bactérias encontrados (Tabela 16). Não houve interação entre dieta e idade e a dieta isoladamente não alterou a porcentagem destes filos. Porém, observou-se um aumento da porcentagem de Bacteroidetes e diminuição de Firmicutes com o aumento da idade.

Entre as 48 classes de bactérias identificadas nos cecos, as principais foram Clostridia, Bacteroidia, Bacilli, Gammaproteobacteria e Erysipelotrichi, totalizando 95,1% das bactérias encontradas (Tabela 17). Não foram observadas interações entre dieta e idade nas classes. Entretanto, aves alimentadas com S100% e PM-S foram as que apresentaram maior porcentagem da classe Bacilli, sendo a menor porcentagem observada naquelas alimentadas com PS-M. Ao avaliarmos os contrastes, foi observada uma diminuição de Bacilli em aves que tiveram dieta com mudança de grãos (PS-M e PM-S: 4,862%) em relação àquelas que receberam dieta sem mudança de grão (M100% e S100%: 6,516%). O tipo de grão utilizado na dieta a partir da fase pré-inicial também influenciou a proporção desta classe, sendo maior quando o sorgo foi utilizado (S100% e PM-S: 7,255%) do quando o milho foi utilizado (M100% e PS-M: 4,110%). As porcentagens de Clostridia, Bacilli e Erysipelotrichi diminuíram nos cecos com a idade, enquanto a porcentagem de Bacteroidia aumentou.

Um total de 95 ordens foram identificadas nos cecos de frangos de corte, sendo que 95% das bactérias pertenciam às ordens Clostridiales, Bacteroidales, Lactobacillales, Enterobacteriales, Erysipelotrichales, Bacillales, Sphingobacteriales, Actinomycetales, Coriobacteriales e Natranaerobiales. Estas ordens não apresentaram interação entre dieta e idade (Tabela 18). Apenas a porcentagem da ordem Lactobacillales foi influenciada pela dieta, sendo maior em aves alimentadas com S100% e PM-S em relação àquelas alimentadas com PS-M, as demais dietas apresentaram níveis intermediários. Maior porcentagem de Lactobacillales foi observado entre as aves que receberam dietas sem mudança de grão (M100% e S100%: 5,997%) em relação às dietas com mudança de grão (PS-M e PM-S: 4,218%). A porcentagem desta ordem também foi influenciada pelo tipo de grão usado a partir da fase pré-inicial, sendo maior naquelas aves alimentadas com sorgo (S100% e PM-S: 6,583%) do que naquelas alimentadas com milho (M100% e PS-M: 3,632%).

Tabela 16 - Porcentagem dos principais filos de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Filo	Dietas					Idade (dias)		Pvalor		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI
Firmicutes	88,392	88,888	85,859	86,114	90,431	94,873a	81,001b	0,6120	<0,0001	0,7777
Bacteroidetes	6,832	7,306	8,757	11,120	5,018	0,239b	15,374a	0,5072	<0,0001	0,8191
Proteobacteria	1,551	1,138	1,849	1,527	1,538	1,565	1,477	0,2553	0,8815	0,7840
Actinobacteria	0,280	0,326	0,335	0,308	0,270	0,271	0,337	0,9133	0,1816	0,9702
Tenericutes	0,386	0,285	0,291	0,249	0,244	0,275	0,307	0,5965	0,2111	0,8023

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 17 - Porcentagem das principais classes de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Classe	Dietas					Idade (dias)		Pvalor			Contrastes[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2	3
Clostridia	82,208	78,829	80,698	78,478	82,420	87,156a	73,905b	0,7537	<0,0001	0,6911	..	..	..
Bacteroidia	5,782	6,414	8,241	10,392	3,952	0,075b	13,837a	0,1280	<0,0001	0,9721	..	..	..
Bacilli	4,726bc	8,307a	4,003bc	3,495c	6,203ab	5,914a	4,779b	<0,0001	0,0158	0,3746	0,0350	0,9872	<0,0001
Gammaproteobacteria	1,144	0,828	1,446	1,184	1,398	1.369	1,031	0,2504	0,0969	0,9221	..	..	..
Erysipelotrichi	1.156	1,169	0,892	0,950	1,269	1.307a	0,867b	0,2354	0,0013	0,4935	..	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

85

Tabela 18 - Porcentagem das principais ordens de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Ordem	Dieta					Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2	3
Clostridiales	81,465	78,089	80,042	77,923	82,343	86,778a	73,167b	0,6841	<0,0001	0,7198	..	..	..
Bacteroidales	5,782	6,414	8,241	10,392	3,950	0,074b	13,837a	0,0919	<0,0001	0,9755	..	..	..
Lactobacillales	4,175bc	7,820a	3,598bc	3.090c	5,347ab	5,393a	4,219b	<0,0001	0,0079	0,2558	0,0269	0,7755	<0,0001
Enterobacteriales	0,955	0,674	1,247	1,024	1,074	1,149	0,841	0,4281	0,1388	0,7205	..	..	..
Erysipelotrichales	1,156	1,169	0,892	0,950	1,344	1,337a	0,867b	0,1548	0,0007	0,4292	..	..	..
Bacillales	0,360	0,272	0,310	0,311	0,341	0,269b	0,369a	0,7275	0,0284	0,6550	..	..	..
Sphingobacteriales	0,341	0,329	0,233	0,366	0,294	0,159b	0,466a	0,2618	<0,0001	0,6840	..	..	..
Actinomycetales	0,204	0,230	0,226	0,233	0,220	0,198	0,248	0,9929	0,3067	0,7572	..	..	..
Coriobacteriales	0,212	0,233	0,183	0,149	0,219	0,186	0,213	0,4252	0,1686	0,0871	..	..	..
Natranaerobiales	0,189	0,195	0,131	0,119	0,181	0,161	0,165	0,4393	0,6970	0,6104	..	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

Tabela 19 - Porcentagem das principais famílias de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Família	Dieta					Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2	3
Lachnospiraceae	30,558	34,284	35,274	32,291	35,761	43,486a	23,781b	0,7630	<0,0001	0,5440	..	..	..
Ruminococcaceae	26,178	20,709	23,561	25,411	24,640	18,561b	29,638a	0,4838	<0,0001	0,4504	..	..	..
Clostridiaceae	20,346	20,973	18,186	16,970	18,042	22.571a	15,236b	0,2007	<0,0001	0,1576	..	..	..
Bacteroidaceae	5,312	6,295	8,106	9,235	3,784	0,064b	13,029a	0,1357	<0,0001	0,9543	..	..	..
Lactobacillaceae	3,242bc	5,743a	2,626bc	2,018c	4,523ab	3,872	3,388	<0,0001	0,0891	0,1082	0,0137	0,4805	<0,0001
Peptostreptococcaceae	1,247	1,685	0,273	0,516	1,298	0,218b	1,790a	0,0457*	<0,0001	0,4390	0,4524	0,1837	0,5399
Enterobacteriaceae	0,955	0,674	1,247	1,024	1,074	1,149	0,841	0,4281	0,1388	0,7205	..	..	..
Coprobacillaceae	0,913	0,896	0,681	0,764	0,899	0,959a	0,702b	0,4592	0,0183	0,7626	..	..	..
Enterococcaceae	0,743	1,155	0,304	0,682	0,683	1.194a	0,233b	0,0777	<0,0001	0,1063	..	..	..
Peptococcaceae	0,650	0,410	0,430	0,409	0,420	0,566a	0,362b	0,0462*	0,0002	0,6612	0,1820	0,1180	0,895

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
*O teste de Tukey não foi capaz de encontrar diferenças na comparação de médias.
[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S)
.

Dentre as 313 famílias de bactérias identificadas, as mais frequentes foram Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Clostridiaceae, Bacteroidaceae, Lactobacillaceae, Peptostreptococcaceae, Enterobacteriaceae, Coprobacillaceae, Enterococcaceae e Peptococcaceae, totalizando 90,8% das bactérias, não apresentando interação entre dieta e idade (Tabela 19). As dietas S100% e PM-S levaram às maiores porcentagens de Lactobacillaceae, enquanto M100%, M:S50% e PS-M levaram às menores porcentagens. Em relação aos contrastes avaliados, dietas com mudança de grãos levaram a uma menor porcentagem de Lactobacillaceae (PS-M e PM-S: 3,270%) do que dietas sem a mudança de grãos (M100% e S100%: 4,492%). As dietas também influenciaram a porcentagem de Peptostreptococcaceae e Peptococcaceae, entretanto as diferenças entre médias não foram detectadas pelo teste de Tukey e os contrastes não foram significativos.

Os 20 gêneros mais frequentes, entre os 489 identificados, totalizaram 85,5% das bactérias nos cecos dos frangos de corte, não apresentando interação entre dieta e idade (Tabela 20). Porém, as dietas S100% e PM-S resultaram em maiores porcentagens de *Lactobacillus* nos cecos dos frangos de corte. Por outro lado, as dietas M100%, M:S50% e PS-M proporcionaram as menores porcentagens desse gênero. Ao avaliarmos os contrastes, aves que receberam dietas sem mudança de grão apresentaram maior porcentagem de *Lactobacillus* (M100% e S100%: 4,382%) do que as aves que receberam dietas com mudança de grãos (PS-M e PM-S: 3,190%). O tipo de grão utilizado após a fase pré-inicial também influenciou a porcentagem dessa espécie nos cecos, sendo que a utilização de sorgo levou a uma maior porcentagem (S100% e PM-S: 5,038) do que a utilização de milho (M100% e PS-M: 2,534%). Aves que receberam a dieta M100% apresentaram maior porcentagem do gênero *Desulfotomaculum* do que aquelas que receberam as dietas S100%, PS-M e PM-S, não se diferenciando da dieta M:S50%. O tipo de grão utilizado a partir da ração inicial também influenciou a porcentagem de *Desulfotomaculum*, sendo maior nas aves alimentadas com milho (M100% e PS-M: 0,404%) do que naquelas alimentadas com sorgo (S100% e PM-S: 0,289%). As dietas e a idade não influenciaram a riqueza da microbiota nos cecos de frangos de corte, como mostrado pelo índice de Shannon. O aumento da idade levou a uma diminuição dos gêneros *Blautia*, *Ruminococcus*, *Alkaliphilus*, *Anaerofilum*, *Coprococcus*, *Coprobacillus*, *Enterococcus* e *Desulfotomaculum* e um aumento dos gêneros *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Oscillospira*, *Parabacteroides* e *Slackia*.

Tabela 20 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias encontrados nos cecos de frangos de corte alimentado com diferentes dietas, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

Gênero	Dietas					Idade (dias)		Pvalor			Contrastes[1]		
	M100%	S100%	M:S50%	PS-M	PM-S	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2	3
Blautia	18,820	21,612	19,706	19,907	21,405	24,707a	15,874b	0,7963	0,0004	0,4928	..	..	..
Faecalibacterium	16,108	12,286	15,532	16,023	17,092	10,219b	20,597a	0,6262	<0,0001	0,5295	..	..	..
Ruminococcus	13,581	13,555	14,420	13,446	14,083	17,200a	10,433b	0,9660	<0,0001	0,8878	..	..	..
Clostridium	10,402	8,990	8,895	8,369	9,567	9,763	8,727	0,5325	0,1900	0,7944	..	..	..
Bacteroides	5,312	6,295	8,106	9,235	3,784	0,064b	13,029a	0,1357	<0,0001	0,9543	..	..	..
Alkaliphilus	6,846	8,683	5,955	5,228	5,975	7,979a	5,095b	0,0607	<0,0001	0,5068	..	..	..
Lactobacillus	3,134bc	5,631a	2,518bc	1,934c	4,446ab	3,733	3,332	<0,0001	0,1318	0,1219	0,0125	0,4457	<0,0001
Oscillospira	2,705	2,277	2,423	2,960	2,106	2,235b	2,754a	0,1103	0,0205	0,1541	..	..	..
Anaerofilum	2,224	1,663	1,815	1,911	1,553	2,202a	1,465b	0,3141	0,0025	0,4653	..	..	..
Lachnospira	1,036	0,793	0,998	0,984	1,086	1,081	0,877	0,5106	0,0710	0,8043	..	..	..
Coprococcus	0,816	0,923	0,736	0,766	1,489	1,445a	0,447b	0,1518	<0,0001	0,2909	..	..	..
Escherichia	0,759	0,536	1,012	0,822	0,897	0,917	0,693	0,4591	0,2023	0,7433	..	..	..
Coprobacillus	0,774	0,769	0,574	0,630	0,781	0,866a	0,546b	0,3581	0,0012	0,9497	..	..	..
Enterococcus	0,697	1,095	0,269	0,640	0,637	1,138a	0,198b	0,1246	<0,0001	0,1802	..	..	..
Natronincola	0,535	0,485	0,529	0,421	0,498	0,504	0,483	0,6468	0,6907	0,5963	..	..	..
Desulfotomaculum	0,509a	0,295b	0,307ab	0,300b	0,284b	0,435a	0,243b	0,0188	<0,0001	0,3318	0,1879	0,1749	0,0486
Sedimentibacter	0,299	0,230	0,257	0,247	0,304	0,306	0,229	0,6118	0,0565	0,2996	..	..	..
Acetobacterium	0,229	0,180	0,206	0,187	0,206	0,212	0,191	0,1562	0,1184	0,7632	..	..	..
Parabacteroides	0,202	0,082	0,090	0,418	0,129	0,007b	0,362a	0,4040	0,0060	0,5016	..	..	..
Slackia	0,188	0,188	0,140	0,114	0,178	0,124b	0,200a	0,3835	0,0009	0,3016	..	..	..
Índice de Shannon	2,445	2,391	2,353	2,345	2,390	2.344	2,426	0,6278	0,0688	0,9956	..	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

[1]Contrastes: 1 (M100%, S100% vs. PS-M, PM-S), 2 (M100%, PM-S vs. S100%, PS-M) e 3 (M100%, PS-M vs. S100%, PM-S).

As bactérias do gênero *Lactobacillus* são gram-positivas e crescem apenas em meio nutricionalmente rico pois utilizam a fermentação de carboidratos como fonte de energia, produzindo principalmente lactato neste processo (SCHLEIFER; LUDWIG, 1995). Comensais do trato gastrointestinal, diversas bactérias do gênero *Lactobacillus* estão sendo utilizadas como probióticos, com o objetivo de melhorar o desempenho de frangos de corte criados sem a utilização de antibióticos (ROCHA et al., 2010). As bactérias deste gênero podem auxiliar contra os patógenos gastrointestinais por dois possíveis mecanismos: produção de substâncias antimicrobianas como ácido lático e bacteriocinas, e por meio da aderência à mucosa e co-agregação para formar barreiras que previnem a colonização do epitélio intestinal por patógenos (EHRMANN et al., 2002). Pesquisas in vitro revelaram a atividade inibitória de cepas de Lactobacillus contra *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e *Salmonella* enteritidis (KIZERWETTER-SWIDA; BINEK, 2005). Adicionalmente, a espécie *Lactobacillus salivarius* produz bacteriocina com atividade anti-Campylobacter, bactéria responsável por gastroenterites humanas (MESSAOUDI et al., 2011). Em sua classificação, o gênero Lactobacillus é representante do filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Lactobacillales e família Lactobacillaceae. Nesta pesquisa, a substituição do milho por sorgo total ou após a fase pré-inicial provocou um aumento do gênero *Lactobacillus* nos cecos dos frangos de corte, assim como a porcentagem de sua família, ordem e classe. Estudo anterior mostra que a substituição pelo sorgo é capaz de aumentar este gênero no duodeno, entretanto o ceco não foi avaliado (LUNEDO, 2012). Por outro lado, a mudança brusca do tipo de grão provocou uma diminuição do número de *Lactobacillus* nos cecos, indicando um desequilíbrio da microbiota, visto que este gênero é extremamente adaptado ao ambiente intestinal e colabora com o equilíbrio microbiano (ANGELAKIS; RAOULT, 2010). Porém, estudo recente indica que maiores porcentagens de *Lactobacillus* nos cecos podem ser relacionados com piores valores de conversão alimentar (STANLEY et al., 2016).

Pertencente ao filo Firmicutes, classe Clostridia, ordem Clostridiales e família Peptococcaceae, o gênero Desulfotomaculum é formado por bactérias gram-positivas redutoras de sulfato (STACKEBRANDT et al., 1997). Entretanto, a produção de sulfeto de hidrogênio por esta redução pode causar danos ao epitélio gastrointestinal, facilitando a translocação bacteriana e contribuindo para desordens intestinais crônicas (DEPLANCKE et al., 2000). Frangos de corte alimentados com

sorgo em pelo menos uma das fases de criação apresentaram diminuição do gênero Desulfotomaculum, provavelmente, proporcionando uma melhor saúde intestinal.

A microbiota dos cecos foi agrupada em seis diferentes “clusters” (Figura 5-A). O “cluster” com menor similaridade em relação aos demais é formado por cinco amostras microbiota cecal de frangos de corte alimentados com diferentes dietas, aos 21 dias de idade, sendo a maior porcentagem do gênero *Bacteroides* o que mais diferencia este grupo dos demais. Outros dois “clusters” possuem maior similaridade entre si pelo predomínio do gênero *Faecalibacterium*. Entretanto, o primeiro “cluster” é formado por quatro amostras de aves aos 10 dias e o segundo “cluster” por amostras de aves aos 21 dias de idade. Este segundo “cluster” também possui certa similaridade com o outro grupo formado pelas demais amostras de aves aos 21 dias de idade, grupo este que mostra grande diversidade entre os gêneros. As demais amostras de aves aos 10 dias de idade formaram dois “clusters”, os quais possuem baixa similaridade com os “clusters” até então descritos. Um “cluster” com apenas duas amostras se diferencia pela maior porcentagem de bactérias do gênero *Blautia*, visto que o outro grupo também apresenta predominância de *Ruminococcus*. Da mesma forma que o observado no intestino delgado, não foi observada alta similaridade da microbiota entre aves de mesma dieta.

Amostras de microbiota aos 10 dias de idade apresentaram menor distância entre si e maior distância em relação às amostras de microbiota aos 21 dias de idade (Figura 5-B). As primeiras apresentaram valores negativos de PCoA 1 e valores próximos a zero de PCoA 2. Por outro lado, as amostras de microbiota aos 21 dias de idade se apresentaram mais distantes umas das outras, apresentando valores positivos de PCoA 1 e uma amplitude de valores positivos e negativos de PCoA 2. Não foram observados padrões de distâncias entre as diferentes dietas.

Estes resultados mostram que a estrutura da microbiota é influenciada pela idade, tanto no intestino delgado quanto nos cecos, porém, sem tanta influência das diferentes formas de substituição do milho pelo sorgo. Os resultados também sugerem um aumento na variação da estrutura da microbiota cecal com a idade. Estes resultados estão de acordo com a literatura que indica que a sucessão da população bacteriana ocorre a partir da comunidade transiente para uma com uma maior complexidade (LU et al., 2003). Com o avançar da idade, a microbiota entra em equilíbrio, sendo *Lactobacillus* e *Clostridium* os principais gêneros encontrados no intestino delgado e nos cecos de aves adultas, respectivamente (LU et al., 2003).

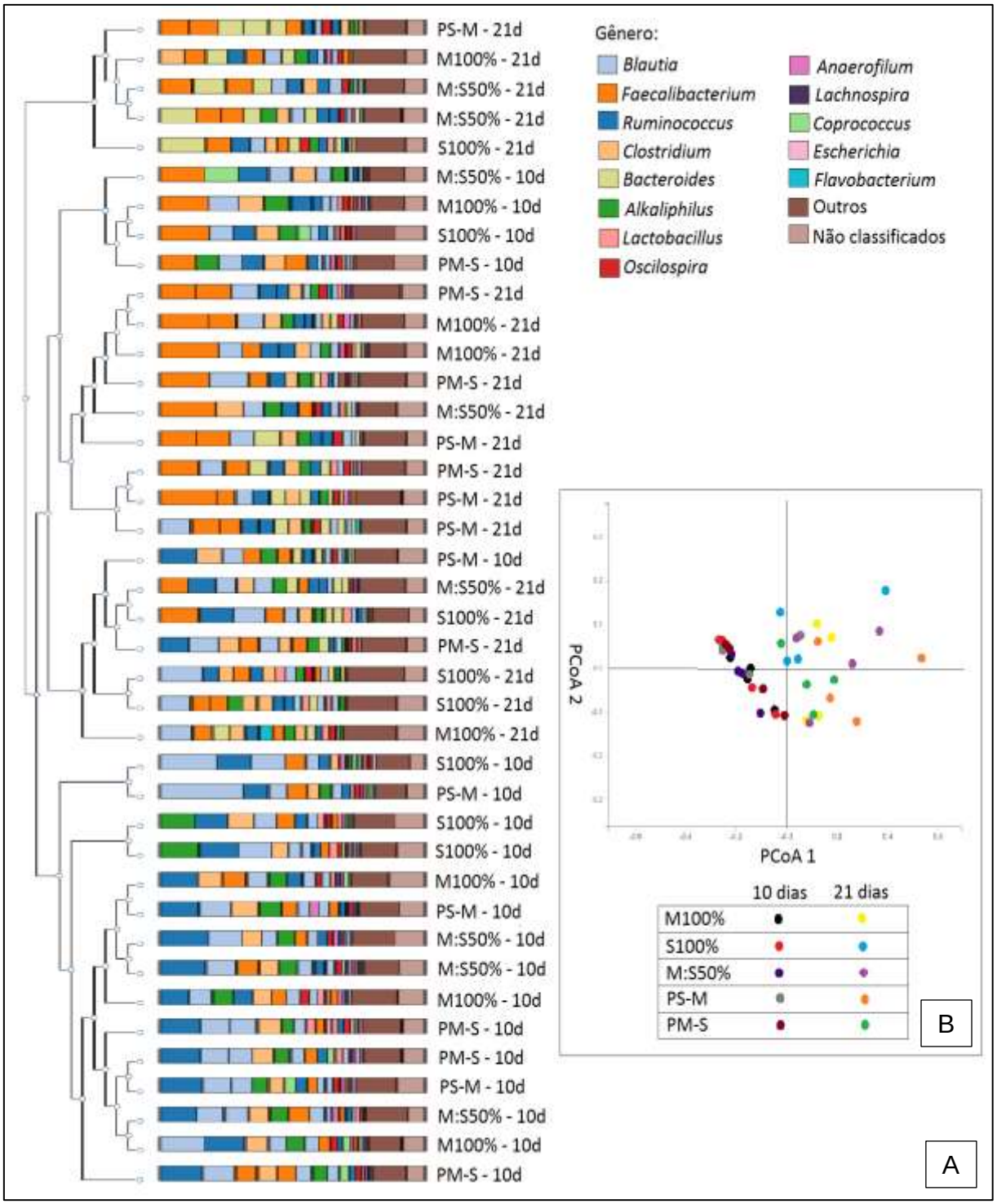

Figura 5 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias cecais de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de milho e/ou sorgo

2.4 Conclusões

A substituição de milho por sorgo, assim como a mudança brusca no tipo de grão, não alteraram o desempenho, epitélio intestinal nem a metabolizabilidade das rações, mas causaram alterações na microbiota intestinal de frangos de corte. O uso de sorgo favoreceu a diminuição dos gêneros *Clostridium*, *Weissella* e *Bacillus*, e aumento do gênero *Alkaliphilus* no intestino delgado. Nos cecos, favoreceu o aumento de *Lactobacillus* e diminuição de *Desulfotomaculum*. Enquanto isso, a mudança brusca no tipo de grão provocou aumento de *Bacillus* no intestino delgado e diminuição de *Lactobacillus* nos cecos de frangos de corte.

Referências

ANGELAKIS, E.; RAOULT, D. The increase of *Lactobacillus* species in the gut flora of newborn chicks and ducks is associated with weight gain. **PLoS One**, San Francisco, v. 5, n. 5, e10463, 2010.

APAJALAHTI, J.H.A.; SÄRKILAHTI, L.K.; MÄKI, B.R.E.; PEKKA HEIKKINEN, J.; NURMINEN, P.H.; HOLBEN, W.E. Effective recovery of bacterial DNA and percent-guanine-plus-cytosine-based analysis of community structure in the gastrointestinal tract of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 10, p. 4084-4088, 1998.

BLESSIN, C.W. Carotenoids of corn and sorghum. I. Analytical Procedure. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 39, p. 236-241, 1962.

BORNSTEIN, S.; BARTOV, I. Comparisons of sorghum grain (Milo) and maize as the principal cereal grain source in poultry rations. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 8, n. 3, p. 213-221, 1967.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira:** grãos. Brasília, 2015. v. 3, n. 1, 162 p.

DEPLANCKE, B.; HRISTOVA, K.R.; OAKLEY, H.A.; McCRACKEN, V.J.; AMINOV, R.; MACHIE, R.I.; GASKINS, H.R. Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 5, p. 2166-2174, 2000.

ELIZONDO, A.M.; MERCADO, E.C.; TABINOVITZ, B.C.; FERNANDEZ-MIYAKAWA, M.E. Effect of tannins on the *in vitro* growth of *Clostridium perfringens*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 145, n. 3/4, p. 308-314, 2010.

EHRMANN, M.A.; KURZAK P.; BAUER, J.; VOGEL, R.F. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 92, n. 5, p. 966-975, 2002.

FUSCO, V.; QUERO, G.M.; CHO, G.S.; KABISCH, J.; MESKE, D.; NEVE, H.; BOCKELMANN, W.; FRANZ, C.M.A.P. The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechological potential. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne v. 6, p. 1-22, 2015.

GARCIA, R.G.; MENDES, A.A.; COSTA, C.; PAZ, I.C.L.A.; TAKAHASHI, S.E.; PELÍCIA, K.P.; KAMIYAMA, C.M.; QUINTEIRO, R.R. Desempenho e qualidade da carne de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de sorgo em substituição ao milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 5, p. 634-643, 2005.

KISIELINSKI, K.; WILLIS, S.; PRESCHER, A.; KLOSTERHALFEN, B.; SCHUMPELICK, V. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clinical and Experimental Medicine**, Milano, v. 2, n. 3, p. 131-135, 2002.

KIZERWETTER-SWIDA, M.; BINEK, M. Selection of potentially probiotic *Lactobacillus* strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria. **Polish Journal of Microbiology**, Warsaw, v. 54, n. 4, p. 287-294, 2005.

LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J.J.; LEE, M.D. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 11, p. 6816-6824, 2003.

LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K.H.; WHITMAN, W.B. Revised road map to the phylum Firmicutes. In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A. (Ed.) **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p. 1-13.

LUNEDO, R. **Avaliação da microbiota presente na mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com ração à base de milho ou sorgo através de PCR em tempo real**. 2012. 64 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2012.

LUNEDO, R.; FERNANDEZ-ALARCON, M.F.; CARVALHO, F.M.S.; FURLAN, L.R.; MACARI, M. Analysis of the intestinal bacterial microbiota in maize- or sorghum-fed broiler chickens using real-time PCR. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 55, n. 6, p. 795-803, 2014.

MATEO, C.D.; CARANDANG, N.F. Feeding and economic evaluation of corn, wheat, and sorghum based-diets in broilers. **Philippine Journal of Science**, Manila, v. 135, n. 1, p. 49-58, 2006.

MESSAOUDI, S.; KERGOURLAY, G.; ROSSERO, AL.; FERCHICHI, M.; PRÉVOST, H.; DRIDER, D.; MANAI, M.; DOUSSET, X. Identification of lactobacilli residing in chicken ceca with antagonism against *Campylobacter*. **International Microbiology**, Barcelona, v. 14, p. 103-110, 2011.

MILTENBURG, G.J.M.; SILVA, R.D.M.; PACKER, I.U. Mudanças periódicas dos ingredientes alimentares associadas às diferentes formas de ração no desempenho de frangos de corte. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 498-501, 1993.

NITSAN, Z. The development of digestive tract in posthached chicks. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY NUTRITION, 10., 1995, Antalya. **Proceedings…** Antalya: WPSA, 1995. p. 21-28.

PAREDES, C.J.; ALSAKER, K.V.; PAPOUTSAKIS, E.T. A comparative genomic view of clostridial sporulation and physiology. **Nature Reviews. Microbiology**, London, v. 3, n. 12, p. 969-978, 2005.

RAO, P.S.; KUMAR, C.G.; REDDY, B.V.S. Sweet sorghum: from theory to practice. In: RAO, P.S.; KUMAR, C.G. (Ed.). **Characterization of improved sweet sorghum cultivars**. Berlin: Springer, 2013. p. 1-17.

ROCHA, A.P.; ABREU, R.D.; COSTA, M.C.M.M.; OLIVEIRA, G.J.C.; ALBINATI, R.C.B.; PAZ, A.S.; QUEIROZ, L.G.; PEDREIRA, T.M. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 11, n. 3, p. 793-801, 2010.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:** composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252 p.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 283 p.

SCHLEIFER, K.H.; LUDWIG, W. Phylogeny of the genus *Lactobacillus* and related genera. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 18, n. 4, p. 461-467, 1995.

SHAKOURI, M.D.; IJI, P.A.; MIKKELSEN, L.L.; COWIESON, A.J. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 93, p. 647-658, 2009.

SILVA, M.C.A.; CAROLINO, A.C.X.G.; LITZ, F.H.; FAGUNDES, N.S.; FERNANDES, E.A.; MENDONÇA, G.A. Effects of sorghum on broilers gastrointestinal tract. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas v. 17, n. 1, p. 95-102, 2015.

STACKEBRANDT, E.; SPROER, C.; RAINEY, F.A.; BURGHARDT, J.; PÄUKER, O.; HIPPE, H. Phylogenetic analysis of the genus *Desulfotomaculum*: evidence for misclassification of *Desulfotomaculum guttoideum* and description of *Desulfotomaculum orientis* as *Desulfosporosinus orientis* gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 47, n. 4, p. 1134-1139, 1997.

STANLEY, D.; HUGHES, R.J.; GEIER, M.S.; MOORE, R.J. Bacteria within the gastrointestinal tract microbiota correlated with improved growth and feed conversion: challenges presented for the identification of performance enhancing probiotic bacteria. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 1-13, 2016.

STANLEY, D.; KEYBURN, A.L.; DENMAN, S.E.; MOORE, R.J. Changes in the caecal microflora of chickens following *Clostridium perfringens* challenge to induce necrotic enteritis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 159, p. 155-162, 2012.

TANDIANG, D.M.; DIOP, M.T.; DIENG, A.; YODA, G.M.L.; CISSE, N.; NASSIM, M. Effect of corn substitution by sorghum grain with low tannin content on broilers production: animal performance, nutrient digestibility and carcass characteristics. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 13, n. 10, p. 568-576, 2014

TAYLOR, J.R.N.; SHEWRY, P.R. Preface to the sorghum and millet reviews. **Journal Cereal Science**, London, v. 44, p. 223, 2006.

TIMBERMONT, L.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; BAN IMMERSEEL, F. Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. **Avian Pathology**, Houghton, v. 40, n. 4, p. 341-347, 2011.

TOROK, V.A.; HUGHES, R.J.; MIKKELSEN, L.L.; PEREZ-MALDONADO, R.; BALDING, K.; MACALPINE, R.; PERCY, N.J.; OPHEL-KELLER, K. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 17, p. 5868-5878, 2011.

TOROK, V.A.; OPHEL-KELLER, K.; HUGHES, R.J.; FORDER, R.; ALI, M.; MACLPINE, R. Environment and age: impact on poultry gut microflora. In: AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 19., 2007, Sidney, **Proceedings…** Sidney: Poultry Research Foundation, 2007. p. 149-152.

TORRES, K.A.A. **Avaliação do desempenho zootécnico, da função da mucosa intestinal e da microbiota ileal quando da substituição do milho pelo sorgo na ração de frangos de corte**. 2010. 78 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

TORRES, K.A.A.; PIZAURO JR. J.M.; SOARES, C.P.; SILVA, T.G.A.; NOGUEIRA, W.C.L.; CAMPOS, D.M.B.; FURLAN, R.L.; MACARI, M. Effects of corn replacement by sorghum in broiler diets on performance and intestinal mucosa integrity. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, p. 1564-1571, 2013.

TOSI, G.; ANTONGIOVANNI, M.; BUCCIONI, A.; MINIERI, S.; MARENCHINO, L.; MELE, M. Efficacy test of a hydrolysable tannin extract against necrotic enteritis in challenged broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, Pavia, v. 12, p. 386-389, 2013

YUTIN, N.; GALPERIN, M.Y. A genomic update on clostridial phylogeny: gram-negative spore-formers and other misplaced clostridia. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 15, n. 10, p. 2631-2641, 2013.

3 SORGO INTEIRO EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE REDUZ O GÊNERO *Clostridium* NO INTESTINO DELGADO SEM ALTERAR O DESEMPENHO

Resumo

O sorgo é utilizado como fonte energética em rações para frangos de corte, sendo sua utilização na forma de grão inteiro potencialmente vantajosa pela redução do custo de produção da ração. Com este estudo, objetivou-se avaliar o desempenho, características do trato gastrintestinal e microbiota intestinal de frangos de corte, assim como a metabolizabilidade das rações, em relação à utilização de sorgo moído ou inteiro durante todas as fases, ou mudando-se a forma do grão a partir do oitavo dia. Para isto, 1696 pintos machos foram criados até 40 dias em um experimento no delineamento em blocos casualizados (blocos no tempo) e alimentados com as seguintes dietas: Sm100% (uso de sorgo moído em todas as idades); Si100% (uso de sorgo inteiro em todas as idades); PSm-Si (uso de sorgo moído até sete dias e sorgo inteiro nas demais fases) e PSi-Sm (uso de sorgo inteiro até sete dias e sorgo moído nas demais fases). Foram avaliadas as seguintes variáveis: desempenho (semanal), morfometria e número de células caliciformes do jejuno (10 dias), peso relativo da moela e microbiota do intestino delgado e cecos (10 e 21 dias), e valores de energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente (EMAn) e coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS) das rações (7 a 11 dias e 17 a 21 dias). A utilização de sorgo inteiro piorou o desempenho dos frangos de corte aos sete dias de idade. Apesar do pior desempenho inicial, a dieta PSi-Sm proporcionou crescimento compensatório e a melhor conversão alimentar ao final do período. Entretanto, a dieta PSm-Si não prejudicou o desempenho aos 40 dias de idade. A utilização do grão de sorgo inteiro (Si100% e PSm-Si) resultou em aumento do peso relativo da moela e dos valores de EMA, EMAn e CMMS das rações, sem causar alterações no jejuno. As dietas testadas alteraram a proporção das bactérias presentes nos intestinos, mas sem alterar a riqueza da microbiota. A utilização de sorgo inteiro após o sétimo dia (Si100% e PSm-Si) propiciou uma diminuição do gênero *Clostridium* e aumento das bactérias das ordens Actinomycetales e Bacillales (exceto *Staphylococcus*) no intestino delgado. Nos cecos, a dieta Si100% causou uma diminuição dos gêneros *Alkaliphilus* e *Enterococcus* em comparação à Sm100%. Interações entre dieta e idade foram observadas em outros gêneros de bactérias. Dentre as diferentes estratégias testadas para o uso de sorgo inteiro para frangos de corte, a dieta PSm-Si não prejudicou o desempenho aos 40 dias de idade e resultou em maiores valores de metabolizabilidade, além de reduzir a porcentagem de bactérias do gênero *Clostridium* no intestino delgado.

Palavras-chaves: Nutrição; Granulometria; Tamanho de partícula; Flora intestinal; Gene 16S

Abstract

Sorghum is an energy source for broiler diets, and the use of whole grain has potential to reduce production costs of diets. The aim of this study was to evaluate performance, gastrointestinal tract characteristics and intestinal microbiota, as well as metabolizability of diets, when broilers were fed ground or whole sorghum-diets, and the shift of these forms after seven days of age. In order to do that, 1,696 male chicks

were raised until 40 days-old, in a randomized block design, fed the experimental diets: Gs100% (ground sorghum-diet in all ages), Ws100% (whole sorghum-diet in all ages), PGs-Ws (ground sorghum-diet until seven days and whole sorghum-diet in other ages), and PWs-Gs (whole sorghum-diet until seven days and ground sorghum-diet in other ages). Performance (weekly), morphometry and number of goblet cells in the jejunum (10 days-old), gizzard relative weight and microbiota of small intestine and caecum (10 and 21 days-old), and apparent metabolizable energy (AME), apparent metabolizable energy corrected for nitrogen (AMEn) and coefficient of apparent metabolizability of dry matter (CMDM) of the diets (7-11 day-old and 17-21 days-old) were evaluated. Whole sorghum-diets worsened broilers performance at 7 days. Despite the lower performance in the initial period, PWs-Gs resulted in compensatory growth and the best feed conversion rate at 40 days. However, PGs-Ws did not impair broilers performance at 40 days. The use of whole sorghum (Ws100% and PGsWs) increased the gizzard relative weight and AME, AMEn and CMDM values of the diets, without altering the jejunum. Experimental diets altered the intestinal bacterial proportions, without changing microbial richness. The use of whole sorghum after seven days (Ws100% and PGs-Ws) resulted in a reduction in the genus *Clostridium* and an increase in the order Actinomycetales and Bacillales (except *Staphylococcus*) in the small intestine. In the caecum, Ws100% resulted in a reduction of in the genera *Alkaliphilus* and *Enterococcus* in comparison to Gs100%. Interactions between diet and age were observed in some genera. Among the different strategies tested for the whole sorghum use for broilers, PGs-Ws did not impair broilers performance at 40 days and resulted in greater metabolizability values, and reduced the percentage of bacteria of the genus *Clostridium* in the small intestine.

Keywords: Nutrition; Milo; Granulometry; Particle size; Intestinal flora; 16S gene

3.1 Introdução

O sorgo granífero tem sido utilizado na produção de frangos de corte como fonte energética, em substituição ao milho. Devido às menores exigências de cultivo, o custo de produção de sorgo é menor, tendo esta economia um reflexo no preço de venda do grão. O Brasil está entre os dez maiores produtores mundiais de sorgo, ocupando o nono lugar na safra de 2014/2015, com uma produção de cerca de 2.000 mil toneladas, ficando atrás apenas da Nigéria, Sudão, México, Índia, Etiópia, Argentina, China e Austrália (ESTADOS UNIDOS, 2016).

Por ser um grão pequeno, sua utilização na ração de frangos de corte na forma inteira tem sido considerada, visto que moagem dos grãos em uma fábrica de ração é responsável por grande parte da energia consumida. Pesquisas recentes realizadas no Brasil indicam que a utilização do sorgo inteiro não traz prejuízos ao peso vivo e conversão alimentar de frangos de corte (CAROLINO et al., 2014; FERNANDES et al., 2013; SILVA et al., 2015). Por outro lado, estudos utilizando

trigo mostram resultados conflitantes, obtendo tanto melhora quanto piora no desempenho das aves com a utilização de trigo inteiro (AMERAH et al., 2011; ERENER et al., 2003). Porém, diversos estudos mostram que a inclusão de grãos inteiros melhora a metabolizabilidade da energia, assim como a digestibilidade ileal de aminoácidos das dietas (BIGGS; PARSONS, 2009; JACOBS; PARSONS, 2013).

A moela é órgão responsável pela quebra do grão inteiro, reduzindo-o em partículas menores para que este se torne disponível para digestão e absorção pela ave. Devido a maior atividade da moela em aves alimentadas com grão inteiro, esta apresenta peso relativo maior (AMERAH et al., 2011; FERNANDES et al., 2013; SILVA et al., 2014). Esse aumento no tamanho e na atividade da moela é capaz de influenciar o ambiente de digestão, proporcionando um melhor aproveitamento do alimento, o que pode levar a um melhor desempenho destas aves (LIU et al., 2015; SINGH et al., 2014). Devido a esta mudança no ambiente de digestão proporcionado pela inclusão de grão inteiro, a estrutura da microbiota intestinal pode ser bastante alterada (AMERAH et al., 2009, 2011).

O uso de grãos inteiros tem sido bastante estudado tanto por reduzir o custo de produção das rações quanto pelo potencial de melhora no desempenho dos frangos de corte. Porém, estes estudos são conduzidos principalmente com o uso de trigo, sendo os estudos com sorgo inteiro ainda escassos. Além disso, é necessário avaliar as alterações relacionadas com a mudança no tipo de grão, visto que a inclusão do sorgo inteiro normalmente não é adotada a partir do alojamento, ocorrendo, portanto, uma mudança brusca na forma do grão ingerido pela ave.

Este estudo tem como objetivo avaliar o desempenho, características do trato gastrintestinal e microbiota intestinal de frangos de corte, assim como a metabolizabilidade das rações, em relação ao uso de sorgo moído ou inteiro durante todas as fases, ou com mudança da forma do grão a partir do oitavo dia. Conhecer a influência do grão de sorgo inteiro sobre os frangos de corte possibilitará estabelecer uma melhor estratégia de seu uso, gerando uma redução no custo de produção.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Criação das aves

Este estudo constou de dois experimentos com frangos de corte, sendo um de desempenho em aviário experimental e outro de metabolismo em gaiolas, ambos

executados de forma simultânea com aves de mesmo lote e as mesmas dietas experimentais. O experimento de campo foi conduzido em um delineamento em blocos casualizados (blocos no tempo). utilizando pintos machos da linhagem Ross AP95® de um dia de idade, distribuídos entre quatro tratamentos com oito repetições cada (quatro por bloco), sendo 50 aves no Bloco A e 42 no Bloco B, totalizando 1456 aves. Estas foram alojadas em galpão experimental em boxes com área de 4,5 m², piso coberto por casca de arroz, bebedouro automático e comedouro tubular.

Adicionalmente, outros 240 pintos machos foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados (blocos no tempo) para a realização de ensaio de metabolismo em duas diferentes idades (sete a 11 dias e 17 a 21 dias). As aves foram distribuídas em quatro diferentes tratamentos, com 10 repetições cada (cinco por bloco), sendo utilizadas seis aves por gaiola no primeiro período, reduzindo a três aves no segundo período de coleta. As aves foram alojadas em gaiolas de metabolismo, com 1,00 m de comprimento, por 0,34 m de largura e 0,20 m de altura, com aquecimento, piso de tela, comedouro e bebedouro de aço inoxidável tipo calha e uma bandeja inferior removível para coleta total de excretas.

As práticas de manejo utilizadas objetivaram garantir a ambiência adequada das aves, oferta de água limpa e fresca e ração à vontade. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – ESALQ/USP, protocolo n. 2014-03.

3.2.2 Dietas experimentais

As rações foram formuladas à base de sorgo e farelo de soja, atendendo os níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al. (2011) e compostas pelas fases de criação pré-inicial, inicial, crescimento e final (Tabela 21). Entretanto, o grão de sorgo foi utilizado na forma moída em moinho de martelo (peneira de 3 mm) e inteira, de acordo com as seguintes dietas experimentais: Sm100% (sorgo moído em todas as rações); Si100% (sorgo inteiro em todas rações); PSm-Si (sorgo moído na ração pré-inicial e sorgo inteiro nas demais rações) e PSi-Sm (sorgo inteiro na ração pré-inicial e sorgo moído nas demais rações). Não foram detectados níveis de taninos condensados no sorgo. O grão apresentou dimensões médias de 4,03 mm, 3,60 mm e 2.41 mm de altura, largura e profundidade respectivamente. Os valores em DGM para granulometria das rações com sorgo moído foram 930, 922, 952 e 913 µm, enquanto para o sorgo inteiro foram 1775, 1915, 2164 e 2179 µm, respectivamente para as fases pré-inicial, inicial, crescimento e final.

Tabela 21 - Ingredientes e composição nutricional calculada das rações experimentais pré-inicial, inicial, crescimento e final para frangos de corte

Ingredientes (%)	Pré-Inicial (1-7 dias)	Inicial (8-21 dias)	Crescimento (21-35 dias)	Final (36-40 dias)
Sorgo[1]	49,999	51,853	55,251	59,991
Farelo de soja	40,848	38,494	34,527	30,234
Óleo de soja	4,663	5,698	6,623	6,560
Fosfato bicálcico	1,839	1,485	1,264	1,051
Calcário calcítico	0,946	0,979	0,925	0,835
Sal comum	0,509	0,484	0,459	0,446
MHA[2]	0,528	0,450	0,431	0,410
L-Lisina HCL	0,241	0,178	0,193	0,235
L-Treonina	0,097	0,059	0,057	0,068
Premix vitamínico[3]	0,150	0,150	0,120	0,080
Premix mineral[4]	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto de colina (60%)	0,080	0,070	0,050	0,040
Agente Anticoccidiano[5]	0,050	0,050	0,050	0,000
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional calculada				
Proteína bruta (%)	23,000	22,000	20,500	19,000
Energia metabolizável (kcal/kg)	2960	3050	3150	3200
Cálcio (%)	0,920	0,841	0,758	0,663
Cloro (%)	0,348	0,333	0,318	0,311
Fósforo disponível (%)	0,470	0,401	0,354	0,309
Potássio (%)	0,917	0,790	0,723	0,757
Sódio (%)	0,220	0,210	0,200	0,195
Lisina digestível (%)	1,324	1,217	1,131	1,060
Metionina digestível (%)	0,665	0,600	0,568	0,536
Met+Cistina digestível (%)	0,953	0,876	0,826	0,774
Treonina digestível (%)	0,861	0,791	0,735	0,689

[1]Fenóis totais: 0,525%; Taninos totais: 0,347%; Taninos condensados: não detectado.
[2]Metionina hidroxi-análoga.
[3]DSM Nutritional Products, Composição por kg de produto: Vit. A – 9000000 UI; Vit. D3 - 2500000 UI; Vit. E - 20000 UI; Vit. K3 – 2500 mg; Vit. B1 – 2000 mg; Vit. B2 – 6000 mg; Vit. B6–3000 mg; Vit. B12 – 15000µg; Ácido Nicotínico - 35 g; Ácido Pantotênico – 12 g; Biotina–100 mg; Ácido Fólico–1500 mg; Selênio – 250 mg.
[4]DSM Nutritional Products, Composição por kg de produto: Manganês - 160000 mg; Ferro - 100000 mg; Zinco - 100000 mg; Cobre - 20000 mg; Cobalto - 2000 mg; Iodo - 2000 mg
[5]Salinomicina 12%.

3.2.3 Avaliação do desempenho

A pesagem das aves, ração fornecida e sobra de ração foi realizada semanalmente, e das aves mortas diariamente para avaliação do desempenho (peso vivo, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar aos sete, 14, 21, 28, 35 e 40 dias de idade). A viabilidade foi calculada apenas ao final do experimento. Também foram calculados o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar no período de oito a 10 dias, compreendendo três dias sucedendo a mudança na forma do grão de sorgo nas rações.

3.2.4 Avaliação do trato gastrintestinal

Uma ave de cada unidade experimental foi selecionada sem jejum prévio e eutanasiada por deslocamento cervical para coleta do trato digestório aos 10 dias de idade. As aves tiveram seu trato gastrintestinal exposto, sendo coletada a moela. Adicionalmente, fragmento de cerca de um centímetro de comprimento da porção média do jejuno ainda fechado foi coletado e fixado em formol a 10%, sendo este encaminhado para confecção de lâminas histológicas.

As amostras de jejuno foram divididas transversalmente em três fragmentos para a confecção de lâminas histológicas para microscopia de luz convencional na coloração ácido periódico-Schiff (PAS). Os cortes histológicos foram analisados por imagens digitalizadas obtidas em aumentos de 100 vezes com o auxílio de um microscópio (BEL® B3 T) acoplado à câmera (BEL® Photonics IS500). Com o auxílio do programa Image-Pro Plus (versão 4.5.0.29), foram mensuradas de cada amostra 20 alturas de vilo (AV) e profundidade de cripta e calculada a relação altura de vilo/profundidade de cripta. Adicionalmente também foram mensuradas a largura dos vilos (LV) e criptas (LC) para o cálculo da quantidade de vezes que a superfície da amostra intestinal foi aumentada devido às vilosidades em relação a uma superfície lisa (área de absorção) (form. 2.1). Em um aumento de 400 vezes, foram feitas capturas de imagens para realizar a contagem de células caliciformes em 20 vilos, conforme Figura 2.1, sendo obtido o número de células caliciformes em 100 µm.

As moelas foram abertas e tiveram seu conteúdo totalmente removido. Após a pesagem da moela, a membrana que reveste a parte interna foi retirada e pesada. Foram calculados o peso da moela em relação ao peso vivo da ave e também o peso da membrana em relação ao peso da moela. Este procedimento foi realizado também aos 21 dias de idade.

3.2.5 Avaliação da microbiota intestinal

A microbiota do intestino delgado e cecos foi avaliada por meio de sequenciamento genético do conteúdo intestinal aos 10 e 21 dias de idade, utilizando apenas as unidades experimentais do Bloco A (n=4), sendo as amostras formadas por “pool” de cinco e três aves, na primeira e segunda idade respectivamente. Apenas as amostras do conteúdo do intestino delgado foram previamente filtradas, sendo realizada a extração do DNA bacteriano, amplificação e sequenciamento do gene 16S rRNA e bioinformática das amostras do intestino delgado e cecos, de acordo com a metodologia descrita no tópico 2.2.5 “Avaliação da microbiota intestinal” do Capítulo 2 desta obra.

3.2.6 Ensaio de metabolizabilidade

Ensaios de metabolizabilidade foram realizados nos períodos de sete a 11 e 17 a 21 dias de idade, por meio de coleta total de excretas para a determinação dos valores de energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMMS) das dietas experimentais. A metodologia utilizada nestes ensaios encontra-se descrita no tópico 2.2.6 “Ensaio de metabolizabilidade” do Capítulo 2 desta obra.

3.2.7 Análise estatística

Os dados referentes ao desempenho das aves, moela, epitélio jejunal e ensaio de metabolismo foram submetidos à análise de variância (5%) e comparação de médias por meio de teste de Tukey. O Proc Mixed foi utilizado, sendo bloco considerado um efeito aleatório. Para análise do desempenho no período de oito a 10 dias, o peso aos sete dias foi utilizado como covariável. Além disso, os dados referentes à avaliação da moela e ensaios de metabolismo foram analisados em esquema fatorial 4 × 2 (quatro dietas e duas idades).

Os dados referentes a microbiota intestinal também foram analisados em esquema fatorial 4 × 2, entretanto, por estes dados não possuírem o efeito bloco, foram analisados por meio do Proc Glm. Complementarmente, foi realizado teste para os contrates abaixo:

- Forma do grão sorgo:

  - Na ração pré inicial (1): Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm;

- Após a ração pré-inicial (2): Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si

Todos os dados foram inicialmente submetidos à verificação da homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos para a correta aplicação de testes estatísticos paramétricos. Parte dos dados referentes a microbiota intestinal foram transformados para atender estes pressupostos. O software estatístico SAS 9.4 foi utilizado para realização das análises (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3.3 Resultados

3.3.1 Desempenho

Durante a fase pré-inicial, as aves foram alimentadas com dietas à base de sorgo moído ou sorgo inteiro, sendo os tratamentos iniciados apenas após esta fase. No período de um a sete dias de idade, aves alimentadas com rações a base de sorgo inteiro apresentaram menor consumo de ração, peso vivo e ganho de peso, além de pior conversão alimentar (Tabela 22).

Tabela 22 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de pintainhos de 1 a 7 dias de idade alimentados com ração a base de sorgo moído ou inteiro (r=16)

Ração	CR (g)	PV (g)	GP (g)	CA
Sorgo moído	138a	165a	119a	1,151a
Sorgo inteiro	119b	138b	92b	1,257b
CV (%)	20,73	13,69	19,42	8,88
Pvalor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0002

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente (P<0,05).

Durante os três primeiros dias que seguiram à mudança ou não da forma do grão de sorgo, o consumo de ração foi maior em aves alimentadas com Sm100% em relação àquelas alimentadas com Si100%, tendo os demais tratamentos valores similares (Tabela 23). As dietas Sm100% e PSm-Si levaram a um maior ganho de peso nesse período em relação à Si100%. Entretanto, melhor conversão alimentar foi observada com as dietas Sm100% e PSi-Sm em comparação à Si100%. Ao analisarmos os contrastes, aves alimentadas com sorgo moído nos sete primeiros dias apresentaram maior consumo de ração e ganho de peso e melhor conversão alimentar (Sm100% e PSm-Si: 126 g, 92,5 g e 1,356 respectivamente) em

comparação ás aves alimentadas com sorgo inteiro (Si100% e PSi-Sm: 114 g, 79 g e 1,466 respectivamente). A forma do grão de sorgo oferecida de oito a 10 dias de idade não influenciou o consumo de ração neste período, porém, maior ganho de peso e melhor conversão alimentar foram observados em aves alimentadas com sorgo moído nesta fase (Sm100% e PSi-Sm: 92 g e 1,333 respectivamente) em relação àquelas alimentadas com sorgo inteiro (Si100% e PSm-Si: 79,5 g e 1,489 respectivamente).

Tabela 23 - Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de pintainhos de 8 a 10 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou *inteiro (r=8)*

	Dieta				CV (%)	Pvalor	Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm			1	2
CR (g)	129a	112b	123ab	116ab	9,73	0,0064	0,0017	0,1139
GP (g)	97a	71b	88a	87ab	5,39	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CA	1,319a	1,586b	1,393ab	1,347a	11,17	0,0036	0,0135	0,0008

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Aos 14 dias de idade, frangos de corte alimentados com Sm100% apresentaram consumo de ração igual aqueles alimentados com PSm-Si e maior que aqueles alimentados com Si100% e PSi-Sm (Tabela 24). Maior peso vivo e ganho de peso foram observados com o uso das dietas Sm100% e PSm-Si e os menores valores com a dieta Si100%, apresentando PSi-Sm valores intermediários. O uso das dietas Sm100%, PSm-Si e PSi-Sm proporcionaram melhor conversão alimentar que Si100%. O consumo de sorgo inteiro na fase pré-inicial levou a um menor consumo de ração, peso vivo, ganho de peso e pior conversão alimentar (Si100% e PSi-Sm: 494 g, 397 g, 351 g e 1,389 respectivamente) em comparação ao consumo de sorgo moído (Sm100% e PSm-Si: 561 g, 456 g, 410 g e 1,340 respectivamente). A forma do grão de sorgo na dieta após a fase pré-inicial não influenciou o consumo de ração aos 14 dias de idade, entretanto, a utilização de sorgo inteiro após esta fase levou a uma diminuição no peso vivo, ganho de peso e piora na conversão alimentar (Si100% e PSm-Si: 527 g, 412 g, 366 g e 1,421 respectivamente) em comparação a utilização de sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm: 528 g, 440 g, 395 g e 1,308 respectivamente).

Tabela 24 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 14 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro (r=8)

	Dieta				CV (%)	Pvalor	Contrastes[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm			1	2
CR (g)	575a	506bc	548ab	482c	12,24	0,0004	<0,0001	0,9425
PV (g)	466a	379c	446a	415b	11,45	<0,0001	<0,0001	<0,0001
GP (g)	421a	333c	400a	369b	12,80	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CA	1,311a	1,473b	1,369a	1,305a	5,22	<0,0001	0,0084	<0,0001

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Aos 21 dias de idade, maior consumo de ração foi observado com o uso da dieta PSm-Si e menor com PSi-Sm, tendo as demais dietas consumos intermediários (Tabela 25). Por outro lado, maior peso vivo e ganho de peso foram observados na utilização de Sm100% e menor na utilização de Si100%, tendo as demais dietas valores intermediários. Aves alimentadas com Sm100% e PSi-Sm apresentaram melhor conversão e aquelas alimentadas com Si100% apresentaram pior conversão alimentar, enquanto PSm-Si apresentou valor intermediário. De um a 21 dias de idade, dietas à base de sorgo inteiro na fase pré-inicial resultou em menor consumo de ração, peso vivo e ganho de peso e pior conversão alimentar (Si100% e PSi-Sm: 1194 g, 892 g, 846 g e 1,400 respectivamente) em comparação a dietas à base de sorgo moído (Sm100% e PSm-Si: 1297 g, 992 g, 946 g e 1,375 respectivamente). Por outro lado, o uso de sorgo inteiro após a fase pré-inicial resultou em maior consumo de ração, menor peso vivo e ganho de peso e pior conversão alimentar (Si100% e PSm-Si: 1292 g, 910 g, 864 g e 1,480 respectivamente) em comparação ao uso de sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm: 1199 g, 974 g, 928 g e 1,295 respectivamente)

Tabela 25 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro (r=8)

	Dieta				CV (%)	Pvalor	Contrastes[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm			1	2
CR (g)	1256b	1246b	1339a	1143c	9,10	<0,0001	<0,0001	<0,0001
PV (g)	1016a	852c	969b	933b	8,76	<0,0001	<0,0001	<0,0001
GP (g)	970a	805c	923b	887b	9,20	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CA	1,300a	1,510c	1,450b	1,291a	5,30	<0,0001	0,0471	<0,0001

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Aos 28 dias de idade a utilização de Sm100% e PSm-Si levou a um maior consumo de ração em comparação à utilização de Si100% e PSi-Sm (Tabela 26). Frangos alimentados com Sm100% apresentaram peso vivo e ganho de peso iguais aos alimentados com PSm-Si e maiores que aqueles alimentados com Si100%. Aves alimentadas com Sm100% e PSi-Sm apresentaram melhor conversão alimentar que aquelas alimentadas com Si100% e PSm-Si. De um a 28 dias de idade, a utilização de grão inteiro na fase pré-inicial levou a um menor consumo de ração, peso vivo e ganho de peso e mesma conversão alimentar (Si100% e PSi-Sm: 2177 g, 1591 g, 1545 g e 1,418 respectivamente) em comparação com a utilização de grão de sorgo moído (Sm100% e PSm-Si: 2368 g, 1721 g, 1675 g e 1,417 respectivamente). Já a utilização de sorgo inteiro a partir da segunda fase de criação levou a um maior consumo de ração, menor peso vivo e ganho de peso e pior conversão alimentar (Si100% e PSm-Si: 2304 g, 1613 g, 1567 g e 1,474 respectivamente) em comparação com o uso de sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm: 2237 g, 1699 g, 1653 g e 1,361 respectivamente).

Tabela 26 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 28 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro (r=8)

	Dieta				CV (%)	Pvalor	Contrastes[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm			1	2
CR (g)	2318a	2198b	2410a	2156b	7,70	<0,0001	<0,0001	0,0191
PV (g)	1745a	1529c	1697ab	1653b	6,38	<0,0001	<0,0001	<0,0001
GP (g)	1699a	1483c	1651ab	1607b	6,55	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CA	1,374a	1,487b	1,461b	1,349a	5,10	<0,0001	0,9426	<0,0001

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com as dietas Sm100% e PSm-Si apresentaram maior consumo de ração que aqueles alimentados com Si100% e PSi-Sm (Tabela 27). Maiores valores de peso vivo e ganho de peso foram observado com o uso de Sm100% e menores valores com o uso de Si100%, tendo as demais dietas valores intermediários. Entretanto, a utilização de Sm100% e PSi-Sm levou a uma melhor conversão alimentar em comparação a utilização de Si100% e PSm-Si. No período de um a 35 dias de idade, o uso de sorgo inteiro na fase pré-inicial levou a um menor consumo de ração, peso vivo e ganho de peso e mesma conversão alimentar (Si100% e PSi-Sm: 3425 g, 2378 g, 2332 g e 1,476

respectivamente) em comparação ao uso do sorgo moído (Sm100% e PSm-Si: 3672 g, 2517 g, 2471 g, 1,492 respectivamente). Já o uso de sorgo inteiro nas demais fases não alterou o consumo de ração, mas levou a um menor peso vivo e ganho de peso e pior conversão alimentar (Si100% e PSmSi: 3548 g, 2389 g, 2343 g e 1,519 respectivamente) (Sm100% e PSi-Sm: 3549 g, 2506 g, 2460 g e 1,449 respectivamente).

Tabela 27 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro (r=8)

	Dieta				CV (%)	Pvalor	Contrastes[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm			1	2
CR (g)	3655a	3407b	3689a	3443b	6,34	<0,0001	<0,0001	0,9703
PV (g)	2554a	2298c	2480b	2459b	4,87	<0,0001	<0,0001	<0,0001
GP (g)	2508a	2252c	2434b	2413b	4,97	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CA	1,466a	1,520b	1,519b	1,432a	3,74	<0,0001	0,0847	<0,0001

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Ao final do período experimental, de 1 a 40 dias, os frangos de corte alimentados com Sm100% e PSm-Si apresentaram maior consumo de ração do que aqueles alimentados com Si100% e PSi-Sm (Tabela 28). Porém, menor peso vivo e ganho de peso foi observado apenas naqueles alimentados com Si100%. Consequentemente, frangos alimentados com PSi-Sm apresentaram melhor conversão alimentar que aqueles alimentados com as demais dietas. A utilização de sorgo inteiro na fase pré-inicial levou a um menor consumo de ração, peso vivo e ganho de peso e melhor conversão alimentar (Si100% e PSi-Sm: 4496 g, 2971 g, 2925 g e 1,546 respectivamente) em relação a utilização de sorgo moído (Sm100% e PSm-Si: 4759 g, 3104 g, 3058 g e 1,572 respectivamente). Por outro lado, a utilização de sorgo inteiro após a fase pré-inicial não alterou o consumo de ração mas reduziu o peso vivo e ganho de peso e piorou a conversão alimentar (Si100% e PSm-Si: 4610 g, 2992 g, 2947 g e 1,576 respectivamente) em relação a utilização de sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm: 4645 g, 3082 g, 3037g e 1,542 respectivamente). A viabilidade dos frangos de corte não foi influenciada pelas dietas testadas (P=0,5976), apresentando valor médio de 96%.

Tabela 28 - Consumo de ração (CR), peso vivo (PV), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro (r=8)

	Dieta				CV (%)	Pvalor	Contrastes[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm			1	2
CR (g)	4750a	4453b	4768a	4540b	5,81	<0,0001	<0,0001	0,4011
PV (g)	3118a	2895b	3090a	3047a	4,09	<0,0001	<0,0001	0,0005
GP (g)	3072a	2849b	3045a	3002a	4,15	<0,0001	<0,0001	0,0004
CA	1,565b	1,573b	1,579b	1,520a	3,14	0,0012	0,0186	0,0026

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

3.3.2 Trato gastrintestinal

Aos 10 dias de idade, a dieta Sm100% propiciou vilos maiores em relação à PSi-Sm, tendo as demais dietas valores similares (Tabela 29). O uso de sorgo inteiro na fase pré-inicial levou a menor altura de vilo (671µm) em relação ao uso do sorgo moído (760 µm). As outras variáveis testadas não tiveram influência das dietas.

Não houve interações entre dieta e idade para os pesos da moela e de sua membrana (Tabela 30). A dieta PSm-Si proporcionou moelas mais pesadas que PSi-Sm, mas a membrana não foi alterada pelas dietas. Em reação ao peso relativo, as dietas Sm100% e PSi-Sm propiciaram menor peso relativo da moela e maior peso relativo da sua membrana em comparação à Si100% e PSm-Si. O aumento da idade levou a um aumento nos pesos absolutos da moela e membrana e uma diminuição em seus pesos relativos. A forma do grão utilizado na fase pré-inicial não influenciou estas variáveis. Porém, o sorgo inteiro após a fase pré-inicial levou a um maior peso relativo de moela e menor peso relativo de sua membrana (3,58% e 13,81% respectivamente) em relação ao sorgo moído (3,07% e 16,64% respectivamente).

3.3.3 Metabolizabilidade das dietas

Não houve interação entre dieta e idade para metabolizabilidade das rações (Tabela 31). Entretanto, a dieta Si100% proporcionou maior valor de EMA e EMAn em relação à Sm100%, tendo as demais dietas valores intermediários e similares. Os CMMS de Si100% e PSm-Si foram maiores que Sm100% e PSi-Sm. A forma do grão de sorgo utilizado na fase pré-inicial não influenciou estas variáveis. Porém, a utilização de sorgo inteiro após esta fase levou a uma maior EMA, EMAn e CMMS (3642 kcal/kg, 3428 kcal/kg e 75,93%, respectivamente) em relação ao uso do sorgo moído (3532 kcal/kg, 3320 kcal/kg e 72,52%).

Tabela 29 - Morfometria e contagem de células caliciformes no jejuno de frangos de corte aos 10 dias de idade, alimentados com dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro (r=8)

	Dieta				CV (%)	Pvalor	Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm			1	2
Altura dos vilos (µm)	801a	701ab	720ab	642b	17,10	0,0304	0,0177	0,7628
Profundidade de criptas (µm)	203	178	212	181	28,29	0,4596	..	..
Relação vilo:cripta	4,2	4,2	3,9	3,7	34,12	0,7027	..	..
Área de absorção	16,3	16,3	15,1	13,2	21,54	0,1846	..	..
Células caliciformes (100 µm)	12,8	9,2	10,9	11,2	27,78	0,3239	..	..

Médias com letras diferentes se diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 30 - Pesos absolutos e relativos da moela e de sua membrana em frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro (r=8)

	Dieta				Idade (dias)		CV (%)	Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21		Dieta	Idade	DxI	1	2
Moela (g)	16,42ab	17,07ab	18,00a	15,21b	9,69b	23,66a	45,03	0,0152	<0,0001	0,2310	0,5774	0,3695
Moela (%)	3,00b	3,68a	3,49a	3,15b	4,11a	2,55b	27,77	<0,0001	<0,0001	0,5129	0,4463	0,0241
Membrana (g)	2,84	2.32	2,47	2,42	1,55b	3.47a	45,15	0,0610	<0,0001	0,1415	..	..
Membrana (%)	16,54a	13,66b	13,97b	16,74a	15,98a	14,47b	17,44	0,0001	0,0094	0,2347	0,9497	<0,0001

Médias com letras diferentes se diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 31 - Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMMS) das diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro para frangos de corte nos períodos de 8 a 12 dias e 17 a 21 dias de idade, com base na matéria seca (r=10)

	Dieta				Idade (dias)		CV (%)	Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	19		Dieta	Idade	DxI	1	2
EMA (kcal/kg)	3518c	3664a	3620ab	3546bc	3444b	3730a	5,18	<0,0001	<0,0001	0,1311	0,3566	0,0022
EMAn (kcal/kg)	3309c	3446a	3411ab	3332bc	3243b	3506a	5,09	<0,0001	<0,0001	0,1351	0,3110	0,0034
CMMS (%)	72,19b	76,63a	75,24a	72,86b	71,47b	76,99a	5,41	<0,0001	<0,0001	0,1166	0,2123	<0,0001

Médias com letras diferentes se diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

3.3.4 Microbiota do intestino delgado

3.3.4.1 Filo

Na microbiota do intestino delgado de frangos de corte aos 10 e 21 dias de idade, foram encontrados 24 diferentes filos, sendo que os cinco principais corresponderam a 99,71% do total de bactérias (Tabela 32). Não houve interação entre dieta e idade para estes filos. Porém, maior porcentagem de Firmicutes foi observado com as dietas Sm100% e PSi-Sm em relação à Si100%, tendo a dieta PSm-Si valores similares. A forma do sorgo na ração pré-inicial não influenciou o filo Firmicutes, mas após esta fase o uso de sorgo inteiro levou a uma diminuição deste filo (84,61%) em relação ao sorgo moído (92,43%). Para o filo Actinobacteria, o uso da dieta Sm100% levou a uma menor porcentagem deste filo em relação ao uso de Si100%, tendo as demais dietas valores similares. A forma do sorgo na ração pré-inicial também não influenciou este filo, mas após esta fase o uso de sorgo inteiro levou a um aumento de Actinobacteria (14,52%) em relação ao uso do sorgo moído (6,83%). Os demais filos analisados não foram influenciados pelas dietas. Apenas o filo Bacteroidetes foi influenciado com a idade, aumentando de 10 para 21 dias.

3.3.4.2 Classe

Foram encontradas 52 diferentes classes de bactérias, sendo que as cinco principais representaram 99,29% do total de bactérias presentes no intestino delgado (Tabela 33). Não houve interação entre dieta e idade para as classes analisadas. Aves alimentadas com Sm100% apresentaram mesma porcentagem da classe Clostridia que aquelas alimentadas com PSi-Sm, porém maior porcentagem em relação à PSm-Si e Si100%. A ração na fase pré-inicial não influenciou a porcentagem desta classe, mas o uso de sorgo inteiro após esta fase levou a uma menor porcentagem da classe Clostridia (9,38%) quando comparado com o consumo de sorgo inteiro (21,99%). Para a classe Actinobacteria, o consumo de Si100% levou a uma maior porcentagem desta classe em comparação com Sm100%, apresentando as demais dietas valores similares. A forma do sorgo utilizada na ração pré-inicial também não influenciou a porcentagem desta classe no intestino delgado, mas o uso de sorgo inteiro após esta fase gerou um aumento da porcentagem de Actinobacteria (14,45%) em relação ao uso de sorgo moído (6,81%). O aumento da idade proporcionou uma diminuição de bactérias da classe Clostridia e um aumento de bactérias da classe Bacilli.

Tabela 32 - Porcentagem dos principais filos de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2
Firmicutes (%)	92,890a	83,207b	86,009ab	91,963a	89,591	87,444	0,0069	0,3076	0,0857	0,4078	0,0015
Actinobacteria (%)	6,406b	15,933a	13,108ab	7,265ab	9,718	11,638	0,0063	0,8723	0,2351	0,1656	0,0010
Proteobacteria (%)	0,366	0,537	0,470	0,441	0,336	0,571	0,8623	0,0779	0,5224	..	..
Bacteroidetes (%)	0,040	0,032	0,034	0,048	0,022b	0,055a	0,8129	0,0250	0,4046	..	..
Cyanobacteria (%)	0,014	0,020	0,026	0,020	0,022	0,018	0,4452	0,4260	0,3230	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 33 - Porcentagem das principais classes de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2
Bacilli (%)	68,816	75,792	74,381	71,706	68,267b	77,080a	0,6445	0,0420	0,2959	..	..
Clostridia (%)	23,913a	7,293c	11,473bc	20,063ab	21.164a	10,207b	0,0027	0,0021	0,7677	0,3436	0,0011
Actinobacteria (%)	6,378b	15,886a	13,012ab	7,239ab	9,663	11,594	0,0076	0,8559	0,2245	0,1596	0,0014
Gammaproteobacteria (%)	0,182	0,271	0,123	0,217	0,148	0,248	0,7861	0,2339	0,1888	..	..
Alphaproteobacteria (%)	0,094	0,108	0,118	0,118	0,095	0,124	0,8387	0,1727	0,4013	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

3.3.4.3 Ordem

No intestino delgado das aves analisadas foram encontradas 104 diferentes ordens de bactéria, sendo que as dez principais representam 98,56% do total de bactérias (Tabela 34). Interações entre dieta e idade foram observadas nas ordens Lactobacillales, Bacillales e Turicibacterales (Tabela 35). As dietas não influenciaram estas ordens aos 10 dias de idade, mas aos 21 dias maior porcentagem de Lactobacillales foi encontrado em aves alimentadas com Sm100% em relação à Si100%, apresentando as demais dietas níveis similares. Para a ordem Lactobacillales apenas a forma do sorgo após a ração pré-inicial influenciou sua porcentagem, sendo que o uso do sorgo inteiro diminuiu sua porcentagem (43,05%) em relação ao uso de sorgo moído (69,30%). Apenas aves alimentadas com Si100% tiveram influência da idade, diminuindo a porcentagem de Lactobacillales com o aumento da idade.

Aos 21 dias de idade, as dietas Si100% e PSm-Si levaram a uma maior porcentagem da ordem Bacillales do que as dietas Sm100% e PSi-Sm. O uso de sorgo inteiro tanto na ração pré-inicial quanto após esta fase resultou em maior porcentagem de Bacillales (24,90% e 37,18% respectivamente) em relação ao sorgo moído (20,05% e 7,78% respectivamente). Apenas as dietas Si100% e PSm-Si tiveram influência da idade, aumentando a porcentagem de Bacillales com a idade.

Maior porcentagem de Turicibacterales foi observada com o uso da dieta Sm100% em relação às demais. O uso de sorgo moído tanto na fase pré-inicial quanto nas demais resultou em maior porcentagem desta ordem (0,88% e 0,86% respectivamente) em relação ao sorgo inteiro (0,057% e 0,074% respectivamente).

A dieta Sm100% resultou em porcentagem da classe Clostridiales similar à dieta PSi-Sm e maior que Si100% e PSm-Si. A forma do sorgo da ração pré-inicial não influenciou a porcentagem desta classe, mas após esta fase o uso do sorgo inteiro diminuiu a porcentagem de Clostridiales (9,32%) em relação ao sorgo moído (21,91%). Por outro lado, o uso de Si100% levou a uma maior porcentagem da ordem Actinomycetales em comparação ao uso de Sm100%, tendo as demais dietas porcentagens similares. A forma do grão nos sete primeiros dias não influenciou a porcentagem desta ordem no intestino delgado, porém o uso de sorgo inteiro após esta idade aumentou a porcentagem de Actinomycetales (14,44%) em comparação ao uso de sorgo moído (6,80%). Em relação à idade, a porcentagem de Clostridiales diminuiu com a idade, enquanto Pseudomonadales aumentou com a idade.

Tabela 34 - Porcentagem das principais ordens de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2
Lactobacillales (%)	62,646	52,440	56,587	64,097	61,710	56,175	0,2764	0,2440	0,0070	..	..
Clostridiales (%)	23,832a	7,240c	11,404bc	19,989ab	21,094a	10,139b	0,0027	0,0021	0,7690	0,3465	0,0011
Bacillales (%)	5,400	25,422	19,412	7,432	6,356	22,477	<0,0001	<0,0001	<0,0001	..	..
Actinomycetales (%)	6,369b	15,878a	12,997ab	7,225ab	9,654	11,581	0,0075	0,8581	0,2237	0,1601	0,0014
Turicibacterales (%)	0,865	0,082	0,085	0,048	0,070	0,470	<0,0001	<0,0001	<0,0001	..	..
Enterobacteriales (%)	0,054	0,105	0,059	0,073	0,053	0,092	0,7283	0,3780	0,3864	..	..
Burkholderiales (%)	0,053	0,092	0,061	0,067	0,053	0,084	0,9506	0,2151	0,3830	..	..
Rhizobiales (%)	0,044	0,060	0,050	0,059	0,049	0,058	0,7637	0,3629	0,5826	..	..
Erysipelotrichales (%)	0,044	0,022	0,039	0,037	0,046	0,026	0,8133	0,2566	0,3320	..	..
Pseudomonadales (%)	0,026	0,028	0,029	0,042	0,020b	0,042a	0,8689	0,0391	0,2347	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 35 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem das ordens Lactobacillales, Bacillales e Turicibacterales presentes no intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Idade	Dieta				Pvalor	Contraste[1]	
		Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm		1	2
Lactobacillales (%)	10 dias	54,280	66,678A	65,278	60,605	0,5451	..	..
	21 dias	71,013a	38,201Bb	47,896ab	67,590ab	0,0041	0,3080	0,0011
	Pvalor	0,0836	0,0052	0,0730	0,4584			
Bacillales (%)	10 dias	3,986	9,686B	5,627B	6,215	0,1397	..	..
	21 dias	6,904b	41,158Aa	33,198Aa	8,648b	<0,0001	0,0435	<0,0001
	Pvalor	0,2258	<0,0001	<0,0001	0,3243			
Turicibacterales (%)	10 dias	0,045B	0,095	0,089	0,049	0,9536	..	..
	21 dias	1,685Aa	0,068b	0,081b	0,046b	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Pvalor	<0,0001	0,8126	0,9430	0,9801			

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) iguais na linha (coluna) não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contrastes: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

3.3.4.4 Família

Foram encontradas 238 diferentes famílias de bactérias no intestino delgado dos frangos de corte, sendo que as dez famílias mais frequentes representaram 88,98% do total de bactérias (Tabela 36). Interação entre dieta e idade foi observada para as famílias Lactobacillaceae, Staphylococcaceae, Enterococcaceae e Peptostreptococcaceae. As dietas influenciaram a porcentagem de Lactobacillaceae no intestino delgado aos 10 e 21 dias de idade, porém, não foi possível detectar a diferença entre as médias pelo teste de Tukey 5% (Tabela 37). A forma do grão na dieta pré-inicial não influenciou a porcentagem desta família, mas após esta fase o uso do sorgo inteiro aumentou a porcentagem de Lactobacillaceae aos dez dias de idade (56,08%) e diminuiu aos 21 dias de idade (34,36%) em comparação ao uso do sorgo moído (30,81% e 61,68% respectivamente). A idade não influenciou a porcentagem de Lactobacillaceae em aves alimentadas com a dieta PSm-Si, mas aumentou com a idade naquelas alimentadas com Sm100% e PSi-Sm e diminuiu com Si100%.

Aos dez dias de idade, a dieta não influenciou a porcentagem de Staphylococcaceae. Entretanto, aos 21 dias, maior porcentagem desta família foi observada em intestino delgado de aves alimentadas com Si100% e PSm-Si em comparação àquelas com Sm100% e PSi-Sm. A forma do grão de sorgo nos primeiros sete dias não influenciou a porcentagem desta família, mas após esta idade o uso de sorgo inteiro aumentou a porcentagem de Staphylococcaceae (34,221%) em relação ao uso de sorgo moído (6,851%). A idade não influenciou a porcentagem desta família em aves alimentadas com Sm100% e PSi-Sm, mas aumentou com a idade em aves alimentadas em Si100% e PSm-Si.

Frangos de corte alimentadas com PSi-Sm apresentaram maior porcentagem da família Enterococcaceae em relação àqueles alimentados com PSm-Si aos 10 dias de idade, tendo porcentagens semelhantes as demais dietas. Porém, este efeito não foi observado aos 21 dias de idade. A forma do sorgo apenas teve influência quando fornecido após a ração pré-inicial, sendo que o consumo de sorgo inteiro levou a uma diminuição da porcentagem de Enterococcaceae (8,33%) em relação ao consumo de sorgo moído (19,263%). Quando os frangos foram alimentados com PSm-Si, a porcentagem de Enterococcaceae não foi influenciada pela idade. Porém, houve uma diminuição na porcentagem desta família com aumento da idade quando as estes foram alimentadas nas demais dietas.

Tabela 36 - Porcentagem das principais famílias de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2
Lactobacillaceae (%)	45,31	42,14	48,30	47,18	43,446	48,019	0,8449	0,3851	0,0004	..	..
Staphylococcaceae (%)	4,844	22,366	17,640	6,322	5,049	20,537	<0,0001	<0,0001	<0,0001	..	..
Clostridiaceae (%)	16,888a	5,315bc	4,757c	11,651ab	13,688a	5,617b	0,0010	0,0005	0,7532	0,7028	0,0009
Enterococcaceae (%)	11.363	7,222	4,545	11,382	13,796	3,461	0,0965	<0,0001	0,0445	..	..
Corynebacteriaceae (%)	2,814	6,295	6,268	4,327	4,423	5,430	0,0523	0,5892	0,2480	..	..
Brevibacteriaceae (%)	0,363b	2,966a	2,352a	0,687b	0,916b	2,267a	<0,0001	0,0424	0,1218	0,1053	<0,0001
Lachnospiraceae (%)	1,619	0,867	1,225	2,189	1,668	1,278	0,3932	0,1639	0,1844	..	..
Dermabacteraceae (%)	0,558c	2,684a	1,943ab	0,830bc	1,364	1,643	0,0013	0,6884	0,4808	0,1435	<0,0001
Peptostreptococcaceae (%)	4,510	0,690	0,552	0,330	0,536	2,505	0,0007	0,0065	<0,0001	..	..
Aerococcaceae (%)	0,838	1,384	1,497	0,899	0,968	1,341	0,1127	0,2381	0,6814	..	..

Médias com letras diferentes se diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). [1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 37 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem das famílias de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Idade	Dieta				Pvalor	Contraste[1]	
		Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm		1	2
Lactobacillaceae (%)	10 dias	28,788B	54,313A	57,849	32,836B	0,0179*	0,9739	0,0064
	21 dias	61,835A	29,961B	38,756	61,524A	0,0085*	0,9550	0,0070
	Pvalor	0,0039	0,0270	0,0771	0,0105			
Staphylococcaceae (%)	10 dias	3,382	7,367B	4,202B	5,246	0,3629	..	..
	21 dias	6,306b	37,365Aa	31,078Aa	7,397b	<0,0001	0,0831	<0,0001
	Pvalor	0,2176	<0,0001	<0,0001	0,3606			
Enterococcaceae (%)	10 dias	18,653Aab	10,824Aab	5,833b	19,873Aa	0,0081	0,3320	0,0085
	21 dias	4,074B	3,620B	3,257	2,892B	0,9185	..	..
	Pvalor	0,0004	0,0294	0,2478	<0,0001			
Peptostreptococcaceae (%)	10 dias	0,347B	0,830	0,673	0,295	0,0937	..	..
	21 dias	8,673Aa	0,550b	0,432b	0,365b	<0,0001	0,0003	0,0012
	Pvalor	<0,0001	0,4632	0,3913	0,7959			

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) iguais na linha (coluna) não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si). *O teste de Tukey não foi capaz de detectar diferenças entre as médias.

A porcentagem de Peptostreptococcaceae não foi influencia pela dieta aos 10 dias de idade. Mas, aos 21 dias de idade, aves alimentadas com Sm100% apresentaram porcentagem mais alta de Peptostreptococcaceae que as demais aves. O uso de sorgo moído na fase pré-inicial e nas demais levou a uma maior porcentagem desta família (4,55% e 4,52% respectivamente) em comparação ao uso de sorgo inteiro (0,457% e 0,491% respectivamente). Apenas aves alimentadas com Sm100% tiveram a porcentagem de Peptostreptococcaceae influenciada pela idade, aumentando com a mesma.

Frangos de corte alimentados com Sm100% apresentaram porcentagem da família Clostridiaceae semelhante aqueles alimentados com PSi-Sm e maior que aqueles alimentados com Si100% e PSm-Si (Tabela 36). A utilização de sorgo inteiro na fase pré-inicial não influenciou a porcentagem desta família, mas seu uso após esta fase levou a uma diminuição de Clostridiaceae (5.04%) em comparação com o uso de sorgo moído (14,27%). A porcentagem da família Clostridiaceae diminuiu com a idade.

Por outro lado, maior porcentagem de Brevibacteriaceae foi observada em frangos alimentados com Si100% e PSm-Si. O uso de sorgo inteiro influenciou a porcentagem desta família apenas quando usado após a fase pré-inicial, sendo maior (2,66%) em comparação aos frangos alimentados com sorgo moído (0,525%). A idade influenciou a porcentagem Brevibacteriaceae, aumentando com a idade.

Do mesmo modo, aves alimentadas com Si100% apresentaram porcentagem de Dermabacteraceae semelhante àquelas alimentadas com PSm-Si e maior que Sm100% e PSi-Sm. O uso de sorgo inteiro após a fase pré-inicial aumentou a porcentagem desta família (2,313%) em relação ao uso de sorgo moído (0,694%). A idade não teve influência sobre esta família.

3.3.4.5 Gênero

Foram encontrados um total de 643 diferentes tipos diferentes de gênero de bactérias no intestino delgado das aves analisadas, sendo que os 20 gêneros mais frequentes representaram 88,32% do total de bactérias (Tabela 38). Foram observadas interações entre dieta e idade para os gêneros *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Alkaliphilus*, *Pediococcus* e *Turicibacter*. Foram observadas diferenças para *Lactobacillus* aos 10 e 21 dias de idade, porém, o teste de Tukey 5% não foi capaz de detectar as diferenças entre as médias (Tabela 39).

Tabela 38 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2
Lactobacillus (%)	44,866	41,327	47,511	46,706	42.719	47,482	0,8357	0,3638	0,0004	..	..
Staphylococcus (%)	4,143	20,395	13,831	5,541	4,064	17,891	<0,0001	<0,0001	<0,0001	..	..
Clostridium (%)	17,304a	5,235b	4,586b	11,005ab	13,460a	5,605b	0,0010	0,0006	0,9166	0,5916	0,0009
Enterococcus (%)	11,173	7,053	4,409	11,225	13,583	3,348	0,0928	<0,0001	0,0461	..	..
Corynebacterium (%)	2,814	6,295	6,268	4,327	4,423	5,430	0,0523	0,5892	0,2480	..	..
Brevibacterium (%)	0,363b	2,966a	2,352a	0,687b	0,916b	2,267a	<0,0001	0,0424	0,1218	0,1053	0,0002
Brachybacterium (%)	0,558c	2,684a	1,943ab	0,830bc	1,364	1,643	0,0013	0,6869	0,4802	0,1443	<0,0001
Alkaliphilus (%)	3,752	0,628	0,625	0,460	0,564	2,079	<0,0001	<0,0001	<0,0001	..	..
Jeotgalicoccus (%)	0,569c	1,632a	1,722ab	0,617bc	0,854	1,415	0,0011	0,2254	0,0706	0,3450	0,0003
Blautia (%)	1,109	0,637	0,744	1,682	1,073	1,013	0,2821	0,3769	0,1909	..	..
Weissella (%)	0,581	0,946	1,287	0,898	0,173b	1,683a	0,4305	<0,0001	0,5467	..	..
Facklamia (%)	0,523	0,910	1,004	0,537	0,722	0,765	0,0520	0,9547	0,4702	..	..
Dietzia (%)	0,258c	0,908a	0,613ab	0,398bc	0,572	0,517	0,0005	0,1514	0,1558	0,0456	0,0002
Ruminococcus (%)	0,432	0,163	0,588	0,425	0,587a	0,217b	0,4494	0,0061	0,0931	..	..
Faecalibacterium (%)	0,472	0,141	0,377	0,776	0,387	0,496	0,1128	0,9476	0,0867	..	..
Aerococcus (%)	0,300	0,359	0,429	0,322	0,195b	0,510a	0,5185	0,0014	0,6768	..	..
Pediococcus (%)	0,253	0,374	0,343	0,284	0,361	0,266	0,1914	0,0873	0,0307	..	..
Bacillus (%)	0,108b	0,499a	0,327a	0,223ab	0,257	0,321	0,0085	0,3377	0,4969	0,0676	0,0015
Streptococcus (%)	0,682	0,070	0,112	0,182	0,041b	0,480a	0,1835	0,0004	0,2402	..	..
Turicibacter (%)	0,865	0,082	0,085	0,048	0,070	0,470	<0,0001	<0,0001	<0,0001	..	..
Índice de Shannon	1.669	2,014	1,872	1,689	1.769	1,854	0,2476	0,5338	0,2339	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 39 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a porcentagem dos gêneros de bactérias do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Idade	Dieta				Pvalor	Contraste[1]	
		Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm		1	2
Lactobacillus (%)	10 dias	28,363B	53,334A	56,900	32,279B	0,0201*	0,9819	0,0067
	21 dias	61,370A	29,319B	38,123	61,133A	0,0078*	0,5295	0,0019
	Pvalor	0,0038	0,0285	0,0808	0,0099			
Staphylococcus (%)	10 dias	2,485B	6,067B	3,296B	4,408	0,1936	..	..
	21 dias	5,800Ab	34,722Aa	24,366Aa	6,674b	<0,0001	0,1124	<0,0001
	Pvalor	0,0484	<0,0001	<0,0001	0,3361			
Enterococcus (%)	10 dias	18,371Aab	10,611Aab	5,699b	19,650Aa	0,0080	0,3366	0,0088
	21 dias	3,976B	3,495B	3,119	2,801B	0,9198	..	..
	Pvalor	0,0004	0,0301	0,2438	<0,0001			
Alkaliphilus (%)	10 dias	0,491B	0,761	0,706	0,296	0,2029	..	..
	21 dias	6,653Aa	0,493b	0,544b	0,624b	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Pvalor	<0,0001	0,3866	0,4853	0,2787			
Pediococcus (%)	10 dias	0,236b	0,560Aa	0,338ab	0,309ab	0,0158	0,1324	0,0276
	21 dias	0,270	0,187B	0,347	0,259	0,2698	..	..
	Pvalor	0,6716	0,0015	0,9810	0,7922			
Turicibacter (%)	10 dias	0,045B	0,095	0,089	0,049	0,9536	..	..
	21 dias	1,685Aa	0,068b	0,081b	0,046b	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Pvalor	<0,0001	0,8126	0,9430	0,9801			

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) iguais na linha (coluna) não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
*O teste de Tukey não foi capaz de detectar diferenças entre as médias.
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

A forma do sorgo na ração pré-inicial não alterou a porcentagem deste gênero. Entretanto, o uso de sorgo inteiro após esta fase levou a um aumento de *Lactobacillus* aos 10 dias e uma diminuição aos 21 dias (55,12% e 33,72% respectivamente) em comparação ao uso de sorgo inteiro (30,32% e 61,25% respectivamente). A idade não influenciou a porcentagem deste gênero para a dieta PSm-Si, mas aumentou nas dietas Sm100% e PSi-Sm e diminuiu na Si100%, com o aumento da idade

Aos 10 dias de idade, as dietas não influenciaram a porcentagem do gênero *Staphylococcus*, mas aos 21 dias, as dietas Si100% e PSm-Si resultaram em maior porcentagem deste gênero em comparação as demais dietas. O uso de sorgo inteiro após a fase pré-inicial levou a uma maior porcentagem de *Staphylococcus* (29,54%) em relação ao uso do sorgo moído (6,24%). A idade não influenciou a porcentagem deste gênero em frangos alimentados com PSi-Sm, mas o aumento da idade levou a um aumento de *Staphylococcus* naqueles alimentados com as demais dietas.

A dieta PSi-Sm levou a uma porcentagem de *Enterococcus* semelhante a Si100% e Sm100% e maior que PSm-Si aos 10 dias de idade, efeito este não observado aos 21 dias. O uso de sorgo inteiro após a fase inicial levou a uma menor porcentagem de *Enterococcus* (8,15%) do que o uso de sorgo moído (19,01%). A porcentagem deste gênero em frangos alimentados com PSm-Si não foi influenciada pela idade, mas diminuiu com o aumento da idade nas demais dietas.

A porcentagem de *Alkaliphilus* não foi influenciada pela dieta aos 10 dias de idade. Porém, aos 21 dias, a dieta Sm100% proporcionou maior porcentagem deste gênero do que as demais dietas. O uso de sorgo moído na fase pré-inicial e após esta fase levou a um aumento de *Alkaliphilus* (3,60% e 3,64% respectivamente) em relação ao uso do sorgo inteiro (0,558% e 0,518% respectivamente).

Por outro lado, a dieta influenciou a porcentagem de *Pediococcus*, sendo que a dieta Si100% levou a uma maior porcentagem desse gênero em relação à Sm100%, apresentando as demais dietas porcentagens semelhantes. O uso de sorgo inteiro após a ração pré-inicial levou a um aumento de *Pediococcus* (0,449%) em comparação ao uso de sorgo moído (0,272%), sendo este efeito não observado aos 21 dias de idade. Apenas aves alimentadas com Si100% foram tiveram influência da idade, tendo uma diminuição de *Pediococcus* com o aumento da idade.

Para o gênero *Turicibacter*, apenas aos 21 dias, a dieta teve influência sendo maior com o uso de Sm100% do que com as demais dietas. O uso de sorgo moído

na fase pré-inicial e nas demais levou a um aumento de *Turicibacter* (0,883% e 0,865% respectivamente) em comparação a o uso de sorgo inteiro (0,057% e 0,074% respectivamente). Apenas aves alimentadas com Sm100% tiveram a porcentagem de *Turicibacter* influenciada pela idade, aumentado com o aumento da mesma.

O uso de Sm100% resultou em maior porcentagem de *Clostridium* que o uso de Si100% e PSm-Si, sendo PSi-Sm semelhante às dietas. O consumo de sorgo inteiro levou a uma diminuição de *Clostridium* (4,91%) em relação ao sorgo moído (14,15%) apenas quando usado após a fase pré-inicial. Maior porcentagem de *Brevibacterium* foi observada com o uso de Si100% e PSm-Si em relação à Sm100% e PSi-Sm. Para este gênero, o sorgo inteiro levou a um aumento de *Brevibacterium* (2,66%) em comparação com o sorgo moído (0,694%) apenas a quando consumido após a fase pré-inicial. Frangos alimentados com Si100% apresentaram porcentagens de *Brachybacterium*, *Jeotgalicoccus* e *Dietzia* semelhantes aqueles alimentados com PSm-Si e maior que quando alimentados com Sm100% e PSi-Sm. A utilização de sorgo inteiro após a fase pré-inicial levou a um aumento na porcentagem destes gêneros (2,31%, 1,68% e 0,760% respectivamente) em comparação a utilização de sorgo moído (0,694%, 0,593% e 0,328% respectivamente). Entretanto, apenas para o gênero *Dietzia* o consumo de sorgo inteiro na fase pré-inicial gerou um aumento de sua porcentagem (0,653%) em relação ao sorgo moído (0,435%). O uso de Si100% e PSm-Si levaram a uma porcentagem de *Bacillus* semelhante ao uso de PSi-Sm e maior que Sm100%. O uso de sorgo inteiro proporcionou um aumento na porcentagem deste gênero (0,413%) em comparação ao uso de sorgo moído após a fase pré-inicial (0,165%). Com a aumento da idade, as porcentagens de *Brevibacterium*, *Weissella*, *Aerococcus* e *Streptococcus* aumentaram, enquanto que Clostridium e Ruminococcus diminuíram no intestino delgado dos frangos avaliados. A riqueza da microbiota não foi influenciada pelas dietas nem pelas diferentes idades, como mostrado pelo índice de Shannon.

Em relação à estrutura da microbiota, esta foi agrupada em quatro diferentes “clusters” (Figura 6-A). O “cluster” com menor similaridade em relação aos demais é composto por cinco amostras de microbiota aos 10 dias de idade, apresentando predominâncias de aves alimentadas com Sm100% (n=3) e PSi-Sm (n=2), ou seja, aves que recebiam sorgo moído no dia desta avaliação. Este “cluster” apresentou

predominância dos gêneros *Clostridium* e *Enterococcus*. Os outros três “clusters” apresentam maior similaridade entre si, sendo o menos similar formado por amostras de aves aos 21 dias de idade alimentadas com sorgo inteiro no dia da coleta (Si100% e PSm-Si), se diferenciando dos demais pela maior porcentagem de *Staphylococcus*. Os outros dois “clusters” apresentaram maior similaridade entre si. Amostras de microbiota de aves aos 21 dias de idade alimentadas com sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm) apresentaram grande similaridade entre si e tiveram como característica a grande predominância do gênero *Lactobacillus*. O outro “cluster” também apresentou predominância de *Lactobacillus*, porém foi representado por amostras de microbiota de aves mais jovens (10 dias). Dentro deste grupo, foi observado certo grau de agrupamento entre aves alimentadas com sorgo inteiro ou moído.

Em relação às distâncias entre as amostras, foi observada uma separação entre as amostras de aves aos 10 dias e 21 dias de idade (Figura 6-B). Aos 10 dias de idade, as amostras de microbiota se concentraram na região do gráfico com valor positivo de PCoA 1, enquanto as amostras de microbiota aos 21dias se concentraram na região com valores negativos. Em relação ao eixo PCoA 2, as amostras de 10 dias se concentraram em valores próximos à zero, enquanto em aves mais velhas as amostras se distribuíram amplamente entre valores positivos e negativos. As diferentes formas de utilização do sorgo também exerceram influência entre as distâncias das amostras de microbiota. Amostras de microbiota de aves alimentadas com sorgo inteiro aos 10 dias de idade (Si100% e PSm-Si) apresentaram menor distância entre si e maior distância em relação às amostras de aves alimentadas com sorgo moído nesta idade (Sm100% e PSi-Sm). Porém, este distanciamento entre as estruturas da microbiota do intestino delgado é muito mais evidente aos 21 dias de idade, onde as aves alimentadas com sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm) apresentam valores positivos de PCoA 2, enquanto aves alimentadas com sorgo inteiro (Si100% e PSm-Si) apresentaram valores negativos. Dentro destes grupos (Sm100% e PSi-Sm; Si100% e PSm-Si), as amostras apresentaram distâncias similares.

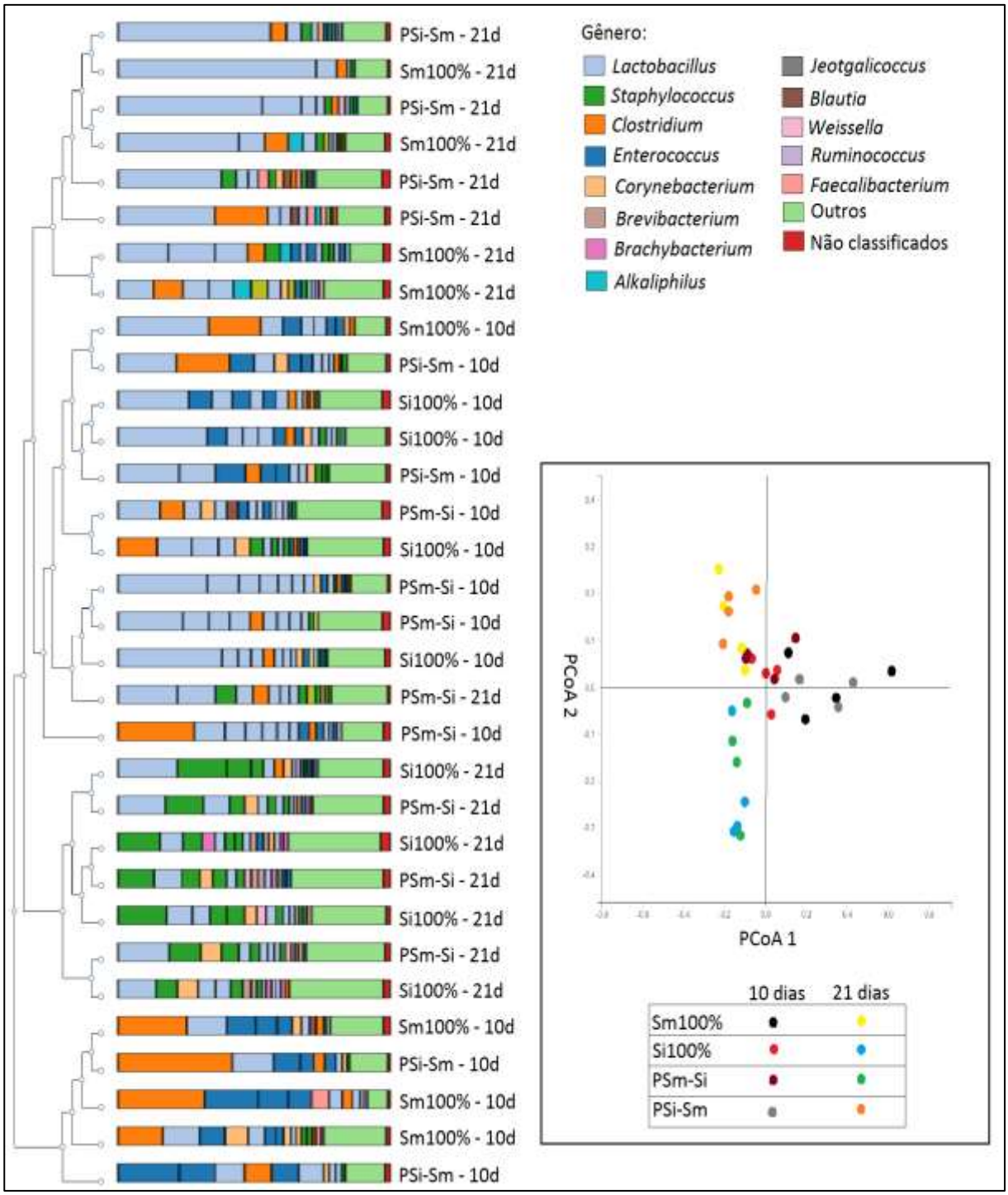

Figura 6 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias do intestino delgado de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de moído e/ou inteiro

3.3.5 Microbiota dos cecos

3.3.5.1 Filo

Nos cecos, 24 filos de bactérias foram encontrados, sendo que os cinco mais frequentes totalizam 97,02% destas bactérias (Tabela 40). Não foram observadas interações entre dieta e idade para estes filos e tampouco as dietas testadas influenciaram a suas porcentagens. Entretanto, com a idade, as porcentagens de Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria diminuíram e Bacteroidetes aumentou.

3.3.5.2 Classe

As cinco classes mais observadas, entre as 46 encontradas, representaram 94,21% do total de bactérias (Tabela 41). Interação entre dieta e idade foi observada apenas para a classe Gammaproteobacteria, onde a dieta PSi-Sm levou a uma maior porcentagem desta classe em relação às outras (Tabela 42). O uso de sorgo inteiro na fase pré-inicial resultou em um aumento de Gammaproteobacteria (2,53%) em comparação ao sorgo moído (1,57%). Porém, quando utilizado após a fase pré-inicial levou a uma diminuição desta classe (1,73%) em comparação ao sorgo moído (2.37%). A dieta não influenciou as demais classes, mas o aumento da idade levou a uma diminuição de Clostridia e aumento de Bacteroidia.

3.3.5.3 Ordem

As 10 principais ordens, de um total de 91, representaram 93,88% das bactérias dos cecos (Tabela 43). Houve interação entre dieta e idade apenas para a ordem Enterobacteriales (Tabela 44). Aos 10 dias, o uso de PSi-Sm levou a uma maior porcentagem desta ordem do que as demais dietas. O sorgo inteiro na fase pré-inicial levou a uma maior porcentagem de Enterobacteriales (2,17%) em relação ao sorgo moído (1,18%), enquanto que o seu uso após esta fase levou a uma menor porcentagem (1,34%) em comparação ao sorgo moído (2.03%). Apenas em PSm-Si e PSi-Sm houve uma diminuição de Enterobacteriales com o aumento da idade.

A dieta PSm-Si proporcionou porcentagem semelhante de Bacillales em comparação à Si100% e PSi-Sm e maior porcentagem em relação à Sm100%. O uso de sorgo inteiro resultou em maior porcentagem de Bacillales (0,488%) quando comparado ao sorgo moído (0,354%), apenas quando utilizado após a fase pré-inicial. Com o aumento da idade, as ordens Bacteroidales e Shingobacteriales aumentaram, enquanto Clostridiales e Actinomycetales diminuíram.

Tabela 40 - Porcentagem dos principais filos de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor		
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI
Firmicutes (%)	91,077	89,138	89,897	89,128	94,178a	85,442b	0,6240	<0,0001	0,5717
Bacteroidetes (%)	4,281	4,542	4,293	3,771	0,199b	8,245a	0,9939	<0,0001	0,9367
Proteobacteria (%)	1,399	1,862	2,280	2,407	2,283a	1,690b	0,0747	0,0486	0,4735
Actinobacteria (%)	0,298	0,439	0,429	0,386	0,467a	0,309b	0,1481	0,0015	0,5135
Tenericutes (%)	0,321	0,279	0,367	1,499	0,933	0,300	0,6762	0,3121	0,7926

Médias com letras diferentes se diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). [1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 41 - Porcentagem das principais classes de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor		
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI
Clostridia (%)	78,505	79,908	81,146	79,750	83,807a	75,848b	0,9126	0,0014	0,2525
Bacilli (%)	8,490	7,670	7,426	7,804	8,735	6,960	0,7517	0,1999	0,5462
Bacteroidia (%)	3,809	4,140	3,725	3,541	0,052b	7,555a	0,9995	<0,0001	0,9706
Gammaproteobacteria (%)	0,990	1,313	1,566	2,493	2,054	1,127	<0,0001	<0,0001	0,0051
Erysipelotrichi (%)	0,968	1,227	1,122	1,236	1,237	1,039	0,4110	0,1165	0,5703

Médias com letras diferentes se diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). [1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 42 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a classe Gammaproteobacteria dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Idade	Dieta				Pvalor	Contraste[1]	
		Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm		1	2
Gammaproteobacteria (%)	10 dias	1,181b	1,495b	1,969Ab	3,570Aa	<0,0001	0,0032	0,0284
	21 dias	0,798	1,130	1,164B	1,416B	0,3590	..	..
	Pvalor	0,2694	0,2902	0,0258	<0,0001			

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) iguais na linha (coluna) não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
*O teste de Tukey não foi capaz de detectar diferenças entre as médias. [1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 43 - Porcentagem das principais ordens de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor			Contraste[1]	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2
Clostridiales (%)	77,600	79,049	80,248	78,946	82,908a	75,018b	0,9129	0,0014	0,2611	..	..
Lactobacillales (%)	7,924	7,095	6,778	7,324	8,163	6,397	0,6921	0,1926	0,5404	..	..
Bacteroidales (%)	3,809	4,140	3,725	3,541	0,052b	7,556a	0,9995	<0,0001	0,9706	..	..
Enterobacteriales (%)	0,656	0,919	1,152	2,147	1,687	0,750	<0,0001	<0,0001	0,0037	..	..
Erysipelotrichales (%)	0,968	1,227	1,122	1,236	1,237	1,039	0,4110	0,1165	0,5703	..	..
Bacillales (%)	0,350b	0,449ab	0,527a	0,358ab	0,442	0,400	0,0215	0,3142	0,7966	0,5023	0,0026
Actinomycetales (%)	0,273	0,361	0,353	0,285	0,363a	0,273b	0,3215	0,0365	0,1738	..	..
Sphingobacteriales (%)	0,277	0,252	0,535	0,204	0,155b	0,479a	0,1292	<0,0001	0,1980	..	..
Coriobacteriales (%)	0,235	0,281	0,264	0,224	0,274	0,227	0,4325	0,1368	0,8284	..	..
Natranaerobiales (%)	0,173	0,164	0,180	0,148	0,151	0,181	0,8153	0,1531	0,3293	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 44 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para a ordem Enterobacteriales dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Idade	Dieta				Pvalor	Contraste[1]	
		Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm		1	2
Enterobacteriales (%)	10 dias	0,840b	1,126b	1,557Ab	3,224Aa	<0,0001	0,0024	0,0183
	21 dias	0,472	0,712	0,748B	1.070B	0,3513	..	..
	Pvalor	0,2685	0,2156	0,0203	<0,0001			

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) iguais na linha (coluna) não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

3.3.5.4 Família

Entre as bactérias presentes nos cecos, foram encontradas 202 diferentes famílias, sendo que as dez mais frequentes representaram um total de 85,36% destas bactérias (Tabela 45). Foram observadas interações entre dieta e idade para Ruminococcaceae, Enterobacteriaceae, Enterococcaceae e Peptostreptococcaceae. A porcentagem de Ruminococcaceae não foi influenciada pela dieta aos 10 dias de idade (Tabela 46). Entretanto, aos 21 dias, a dieta PSi-Sm resultou em porcentagem desta família semelhante à Sm100% e maior que Si100% e PSm-Si. Quando o sorgo inteiro foi usado na ração pré-inicial, foi observada maior porcentagem de Ruminococcaceae (25,06%) em comparação ao sorgo moído (20,22%). Por outro lado, quando utilizado após esta fase, o sorgo inteiro teve efeito contrário, tendo menor porcentagem (18,47%) em comparação ao sorgo moído (26,81%). Apenas com a dieta PSi-Sm observou-se um aumento de Ruminococcaceae com a idade.

Apenas aos 10 dias de idade, frangos alimentados com PSi-Sm apresentaram maior porcentagem de Enterobacteriaceae do que os demais. O uso de sorgo inteiro na fase pré-inicial resultou em maior porcentagem desta família (2,17%) quando comparado ao sorgo moído (1,20%). Porém, seu uso após esta fase proporcionou diminuição desta família (1,34%) em relação ao uso de sorgo moído (2,03%).

Em relação à família Enterococcaceae, sua porcentagem foi maior com a dieta Sm100%, apenas aos 10 dias de idade em relação às demais dietas. O uso de sorgo inteiro após a fase pré-inicial resultou em uma diminuição de Enterococcaceae (0,660%) quando comparado ao uso de sorgo moído (1,61%). O aumento da idade levou a uma diminuição desta família com o uso de todas as dietas.

Aos 10 dias de idade, as dietas não influenciaram a porcentagem de Peptostreptococcaceae nos cecos dos frangos. Mas, aos 21 dias, maior porcentagem foi observada em frangos alimentados com Sm100% quando comparado com os demais. O sorgo inteiro proporcionou diminuição de Peptostreptococcaceae (0,262) nos cecos, quando comparado com o sorgo inteiro (1,73%), apenas quando fornecido na ração pré-inicial.

As demais famílias analisadas não foram influenciadas pela dieta. Porém, a idade influenciou as porcentagens de Bacteroidaceae, Lachnospiraceae, Clostridiaceae e Peptococcaceae, sendo a primeira família aumentada com a idade e as demais diminuídas com a mesma.

Tabela 45 - Porcentagem das principais famílias de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor		
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI
Lachnospiraceae (%)	33,587	38,134	39,657	32,394	40,582a	31,304b	0,4432	0,0175	0,2408
Clostridiaceae (%)	19,284	19,651	20,601	21,188	23,213a	17,149b	0,9116	0,0075	0,9218
Ruminococcaceae (%)	20,121	17,617	16,085	21,799	15,171	22,640	0,0816	<0,0001	0,0081
Lactobacillaceae (%)	5,766	6,317	6,011	6,559	6,874	5,453	0,9314	0,4560	0,4629
Bacteroidaceae (%)	3,690	3,214	2,722	3,484	0,040b	0,515a	0,9890	<0,0001	0,9293
Enterobacteriaceae (%)	0,656	0,919	1,152	2,147	1,687	0,750	<0,0001	<0,0001	0,0037
Coprobacillaceae (%)	0,730	0,949	0,819	0,967	0,921	0,812	0,2624	0,3346	0,5797
Enterococcaceae (%)	1,371	0,445	0,440	0,484	1,133	0,237	0,0099	<0,0001	0,0476
Peptococcaceae (%)	0,483	0,607	0,650	0,507	0,704a	0,419b	0,2499	<0,0001	0,4080
Peptostreptococcaceae (%)	1,613	0,176	0,248	0,207	0,125	0,998	0,0143	<0,0001	0,0284

Médias com letras diferentes se diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). [1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 46 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para famílias de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Idade	Dieta				Pvalor	Contraste[1]	
		Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm		1	2
Ruminococcaceae (%)	10 dias	17,471	15,954	14,502	12,757B	0,5115	..	..
	21 dias	22,770ab	19,280b	17,669b	30,842Aa	0,0019	0,0346	0,0015
	Pvalor	0,1115	0,3100	0,3333	<0,0001			
Enterobacteriaceae (%)	10 dias	0,840b	1,126b	1,557Ab	3,224Aa	<0,0001	0,0024	0,0183
	21 dias	0,472	0,712	0,748B	1,070B	0,3513	..	..
	Pvalor	0,2685	0,2156	0,0203	<0,0001			
Enterococcaceae (%)	10 dias	2,463Aa	0,685Ab	0,635Ab	0,750Ab	0,0017	0,0571	0,0236
	21 dias	0,278B	0,206B	0,246B	0,217B	0,8944	..	..
	Pvalor	<0,0001	0,0088	0,0193	0,0029			
Peptostreptococcaceae (%)	10 dias	0,122B	0,127	0,133	0,117	0,9713	..	..
	21 dias	3,105Aa	0,226b	0,364b	0,298b	0,0015	0,0042	0,0596
	Pvalor	<0,0001	0,1467	0,0682	0,2265			

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) iguais na linha (coluna) não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

3.3.5.5 Gênero

Nos cecos dos frangos de corte analisados, foram encontrados 473 diferentes gêneros de bactérias, sendo que os 20 mais frequentes representam 82,54% destas bactérias (Tabela 47). Foram observadas interações entre dieta e idade para os gêneros *Ruminococcus* e *Escherichia* (Tabela 48). Aos dez dias de idade, aves alimentadas com Si100% apresentaram porcentagem de *Ruminococcus* semelhante àquelas alimentadas com PSi-Sm e maior que aquelas alimentadas com Sm100% e PSm-Si. Quando o sorgo inteiro foi utilizado na ração pré-inicial, observou-se maior porcentagem deste gênero (19,68%) em comparação ao uso do sorgo moído (13,26%). Porém, aos 21 dias de idade a dieta não influenciou a porcentagem de *Ruminococcus*. Aves alimentadas com PSm-Si não tiveram a porcentagem deste gênero influenciada pela idade, mas o aumento da idade resultou em uma diminuição de *Ruminococcus* em aves alimentadas com as demais dietas.

Aos dez dias de idade, aves alimentadas com PSi-Sm apresentaram maior porcentagem de *Escherichia* do que as demais aves. O uso de sorgo inteiro na fase pré-inicial resultou em uma maior porcentagem deste gênero (1,60%) em comparação ao uso de sorgo moído (0,847%). Entretanto, efeito contrário foi observado quando o sorgo inteiro foi usado após esta fase, apresentando menor porcentagem (0,955%) do que o sorgo moído (1,49%). Aos 21 dias de idade, as dietas não influenciaram a porcentagem de *Escherichia*. Apenas em aves alimentadas com PSm-Si, a porcentagem de *Escherichia* diminuiu com a idade.

A porcentagem de *Alkaliphilus* em aves alimentadas com Sm100% foi semelhante àquelas alimentadas com PSm-Si e PSi-Sm e maior quando comparadas com Si100%. Por outro lado, o uso de PSi-Sm proporcionou porcentagem de *Anaerofilum* semelhante ao uso de Si100% e maior que Sm100% e PSm-Si. O sorgo inteiro na fase pré-inicial resultou em uma maior porcentagem deste gênero (1,86%) do que o sorgo moído (1,30%), não sendo este efeito observado após a fase pré-inicial. Maior porcentagem de *Enterococcus* foi observada em aves alimentada com Sm100% em comparação as demais. O aumento da idade levou a um aumento de *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Lachnospira* e *Acetobacterium*, além de uma diminuição de *Alkaliphilus*, *Anaerofilum*, *Coprococcus*, *Natronincola*, *Enterococcus*, *Sedimentibacter* e *Desulfotomaculum*. De acordo com o índice de Shannon, a riqueza da microbiota não foi influenciada pelas diferentes dietas nem pelas idades.

Tabela 47 - Porcentagem dos principais gêneros de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Dieta				Idade (dias)		Pvalor			Contrastes	
	Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm	10	21	Dieta	Idade	DxI	1	2
Blautia (%)	22,191	26,132	23,592	19,185	23,458	22,093	0,3097	0,6015	0,3356	..	..
Ruminococcus (%)	12,152	14,868	11,719	13,610	16,472	9,703	0,0767	<0,0001	0,0011	...	..
Faecalibacterium (%)	12,349	9,052	8,750	13,339	7,155b	14,590a	0,2795	0,0001	0,1597	..	..
Clostridium (%)	8,724	10,680	10,563	10,646	10,677	9,629	0,5530	0,3624	0,6927	..	..
Alkaliphilus (%)	8,934a	4,985b	5,871ab	6,384ab	8,145a	4,942b	0,0345	0,0005	0,2574	0,2076	0,0593
Lactobacillus (%)	5,572	5,987	5,651	6,216	6,406	5,307	0,9135	0,5617	0,4499	..	..
Bacteroides (%)	3,690	3,214	2,722	3,484	0,040b	6,515a	0,9890	<0,0001	0,9293	..	..
Oscillospira (%)	2,163	2,408	2,091	2,298	2,171	2,309	0,8154	0,5896	0,0924	..	..
Anaerofilum (%)	1,224b	1,565ab	1,370b	2,156a	1,786a	1,372b	0,0089	0,0070	0,5466	0,0059	0,3864
Lachnospira (%)	0,826	1,149	1,121	0,935	0,899b	1,116a	0,1174	0,0493	0,4968	..	..
Escherichia (%)	0,475	0,678	0,811	1,609	1,223	0,564	<0,0001	<0,0001	0,0078	..	..
Coprococcus (%)	0,692	0,694	1,057	0,730	1,104a	0,483b	0,5886	0,0011	0,2815	..	..
Natronincola (%)	0,746	0,797	0,766	0,616	0,816a	0,646b	0,2357	0,0146	0,4268	..	..
Coprobacillus (%)	0,640	0,765	0,667	0,807	0,772	0,667	0,4601	0,3408	0,5982	..	..
Enterococcus (%)	1,278a	0,377b	0,379b	0,419b	1,050a	0,176b	0,0126	<0,0001	0,0759	0,2727	0,2649
Sedimentibacter (%)	0,328	0,465	0,427	0,415	0,483a	0,334b	0,3419	0,0131	0,7223	..	..
Desulfotomaculum (%)	0,291	0,371	0,418	0,326	0,451a	0,252b	0,2571	0,0007	0,5286	..	..
Peptoniphilus (%)	0,221	0,226	0,218	0,230	0,213	0,234	0,9816	0,3507	0,2928	..	..
Acetobacterium (%)	0,182	0,224	0,213	0,220	0,191b	0,228a	0,3571	0,0496	0,3435	..	..
Slackia (%)	0,188	0,204	0,223	0,187	0,200	0,201	0,8547	0,9983	0,7833	..	..
Índice de Shannon	2,433	2,424	2,461	2,453	2,421	2,464	0,9497	0,4049	0,9126	..	..

Médias seguidas de letras diferentes se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Tabela 48 - Desdobramento da interação entre dieta e idade para gêneros de bactérias dos cecos de frangos de corte alimentados com diferentes dietas à base de sorgo moído e/ou inteiro, aos 10 e 21 dias de idade (r=4)

	Idade	Dieta				Pvalor	Contraste[1]	
		Sm100%	Si100%	PSm-Si	PSi-Sm		1	2
Ruminococcus (%)	10 dias	14,310Abc	20,684Aa	12,220c	18,674Aab	0,0005	0,0011	0,9782
	21 dias	9,994B	9,051B	11,218	8,547B	0,4667	..	..
	Pvalor	0,0153	<0,0001	0,6005	<0,0001			
Escherichia (%)	10 dias	0,605b	0,821b	1,090Ab	2,375Aa	<0,0001	0,0020	0,0152
	21 dias	0,346	0,536	0,532B	0,842B	0,2868	..	..
	Pvalor	0,3135	0,2683	0,0367	<0,0001			

Médias seguidas de letras minúsculas (maiúsculas) iguais na linha (coluna) não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).
[1]Contraste: 1 (Sm100%, PSm-Si vs. Si100%, PSi-Sm), 2 (Sm100%, PSi-Sm vs. Si100%, PSm-Si).

Nos cecos, o agrupamento das amostras de acordo com a estrutura da microbiota foi menos evidente do que no intestino delgado (Figura 7-A). O “cluster” que apresentou menor similaridade com as demais amostras foi composto principalmente por amostras de microbiota de frangos alimentados com sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm), aos 21 dias de idade, apresentando grande variabilidade de gêneros com predomínio de *Faecalibacterium* e *Bacteroides*. Duas amostras mostraram baixa similaridade com as demais, apresentando-se isoladamente no dendrograma. Dois “clusters” foram formados, tendo dentro deles maior similaridade entre as amostras. O primeiro é formado por amostras de microbiota cecal de aves aos 10 dias de idade, apresentando predomínio de bactérias dos gêneros *Ruminococcus, Blautia* e *Alkaliphilus*. Por outro lado, o segundo “cluster” apresentou predominância de *Blautia* e *Faecalibacterium*. Foi observado agrupamento de “clusters” entre aves alimentadas com sorgo moído (Sm100% e PSi-Sm) e aves alimentadas com sorgo inteiro (Si100% e PSm-Si) aos 21 dias de idade, apresentando menor similaridade entre os grupos. Porém, este efeito foi pouco observado aos 10 dias de idade.

Foi observado distanciamento entre as amostras de microbiota de aves aos 10 dias de idade em relação àquelas aos 21 dias (Figura 7-B). As amostras de aves aos 10 dias de idade se concentraram na região do gráfico com valores positivos de PCoA1, enquanto àquelas de 21 dias concentraram-se na região com valores negativos. Ambos os grupos apresentaram valores de PCoA 2 em torno de zero. Aos 10 dias, as amostras de microbiota oriundas de cada dieta se apresentaram de maneira aleatória dentro de seu grupo. Por outro lado, aos 21 dias de idade, observou-se uma menor distância entre amostras dos tratamentos Sm100%, Si100% e PSm-Si e um distanciamento das amostras do tratamento PSi-Sm.

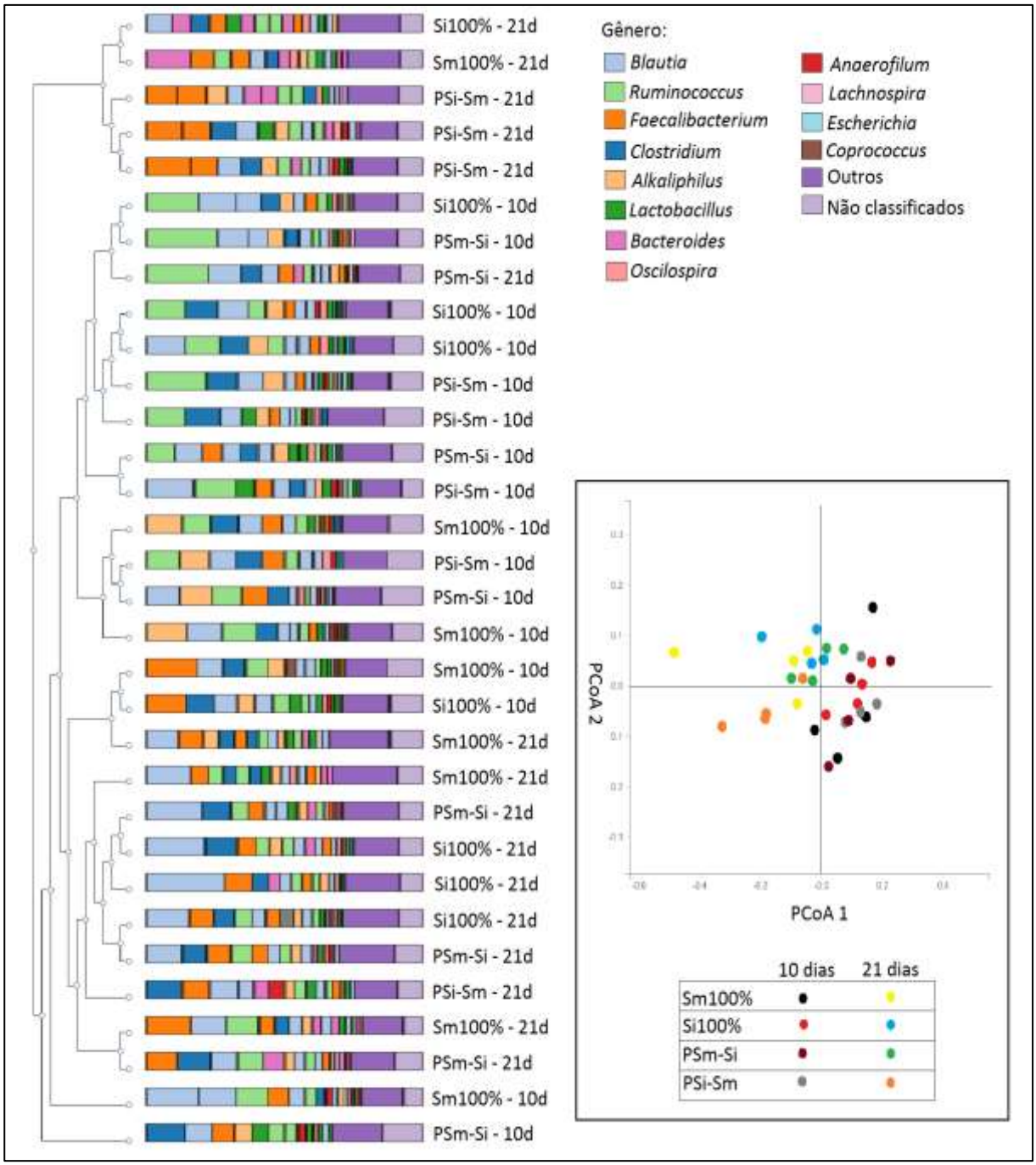

Figura 7 - Dendrograma de agrupamento hierárquico (A) e gráfico de análises de coordenadas principais (B) à nível de gênero de bactérias dos cecos de frangos de corte, de 10 e 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de moído e/ou inteiro

3.4 Discussões

3.4.1 A utilização de sorgo inteiro a partir de 8 dias de idade não prejudica o desempenho de frangos de corte aos 40 dias de idade, além de proporcionar aumento na EMA, EMAn e CMMS das rações

Diversos trabalhos mostram que o tamanho das partículas presentes na ração é capaz de influenciar o desempenho e o trato gastrintestinal das aves, assim como a digestibilidade dos nutrientes (FRONTE et al., 2013; RUHNKE et al., 2015; XU et al., 2015). Do mesmo modo, estudos com grãos inteiros também encontraram influencia nestes parâmetros (AMERAH et al., 2011; SILVA et al., 2015; SINGH et al., 2014).

Ao final do período de criação, quando comparamos a utilização de sorgo moído (Sm100%) ou inteiro durante todas as fases (Si100%), observamos menor consumo de ração, peso vivo e ganho de peso em aves alimentadas com o sorgo inteiro, porém, sem alterar a conversão alimentar. O menor crescimento do pintainho alimentado com sorgo inteiro na primeira semana de vida refletiu em frangos menores aos 40 dias de idade, visto que existe alta correlação entre o peso do pintainho aos sete dias de idade e o peso ao abate (NITZAN, 1995). Entretanto, estudo recente encontrou efeito contraditório, mostrando que pintainhos alimentados com ração à base de sorgo inteiro tiveram mesmo peso vivo aos sete dias de idade, quando comparados àqueles alimentados com sorgo moído (SILVA et al., 2014). Por serem menores, essas aves consumiram menos durante toda a vida, refletindo no menor consumo de ração aos 40 dias. Por outro lado, a conversão alimentar dessas aves foi pior da primeira à quinta semana de idade, se igualando àquelas alimentadas com sorgo moído aos 40 dias de idade. Estes resultados mostram uma possível melhora no metabolismo das aves alimentadas com sorgo inteiro com o aumento da idade. Em estudos recentes, frangos de corte alimentados com sorgo inteiro apresentaram mesmo peso vivo e conversão alimentar que aqueles alimentados com sorgo moído (CAROLINO et al., 2014; FERNANDES et al., 2013; SILVA et al., 2015). Por outro lado, pesquisas com trigo possuem resultados divergentes, tanto com melhora quanto piora do desempenho de frangos alimentados com rações contendo este grão inteiro (AMERAH et al., 2011; ERENER et al., 2003).

Estas aves mostraram capacidade de ingerir o grão de sorgo nas primeiras 24 horas após o alojamento, ingerindo tanto o grão de sorgo quanto a parte farelada da ração (Figura 8-A). Podemos então pressupor que o ponto crítico para o pior desempenho destas aves foi a ingestão insuficiente de ração pelos pintainhos s até os sete dias de idade. Este menor consumo pode ser devido à capacidade limitada de moagem dos grãos pela moela, seguida de uma taxa de passagem mais lenta pelo trato digestivo, ou até mesmo pela sensação de saciedade devido a maior atividade da moela (HETLAND et al., 2002). Porém, é possível que a moela não esteja completamente funcional nos primeiros dias, podendo ter acúmulo de grãos de sorgo não moídos na mesma (Figura 8-B).

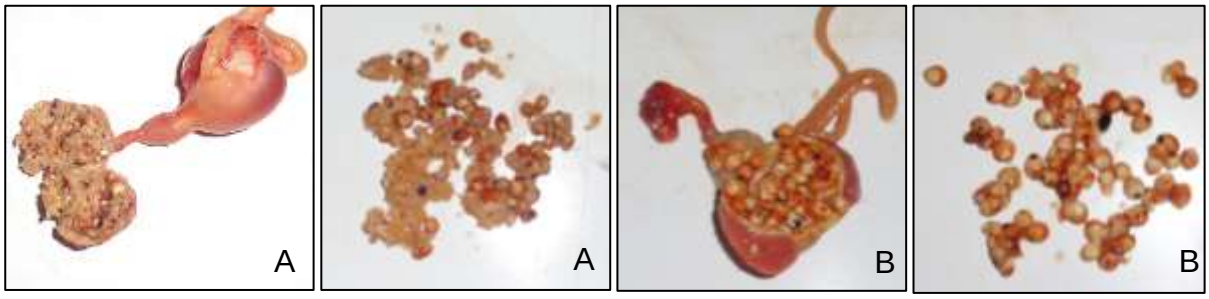

Figura 8 - Conteúdo luminal do inglúvio (A) e da moela (B) de pintainhos alimentados com ração à base de sorgo inteiro, um dia após o alojamento

Vários fatores podem ter influenciado para que o consumo de ração encontrado nesta pesquisa fosse diferente daqueles na literatura. O primeiro deles é a utilização de diferentes linhagens de pintainhos, visto que esta pesquisa foi realizada com pintainhos da linhagem Ross AP95® e as demais pesquisas utilizaram as linhagens Hubbard Flex® e Cobb® (CAROLINO et al., 2014; SILVA et al., 2014, 2015). Trabalhos comprovam que a linhagem utilizada pode afetar o consumo de ração (STRINGHINI et al., 2003; MOREIRA et al., 2004).

Outro importante fator que pode ter contribuído com o menor consumo do sorgo é o tipo de sorgo utilizado. As diferentes variedades de sorgo podem produzir grãos de tamanhos diferentes, sendo que grãos maiores poderiam ser de difícil preensão, fazendo com que ave tenha uma ingestão de menor quantidade de ração em um mesmo período de tempo. Além disso, os grãos de sorgo podem diferir quanto o tipo de endosperma, densidade e dureza do grão, podendo interferir no tempo necessário para a quebra deste grão na moela, diminuindo a taxa de

passagem e consequentemente comprometendo a ingestão da ração. Pesquisa comprova que estas diferenças dos grãos interferem nas suas propriedades de moagem em moinhos (MAXSON et al., 1971).

A utilização de sorgo inteiro não influenciou as características do jejuno dos frangos de corte aos 10 dias de idade. Este resultado está de acordo com o encontrado por Silva et al. (2014), ao analisar a morfometria do intestino delgado de frangos de corte aos sete dias de idade. Porém, a utilização de sorgo inteiro pode resultar em uma maior profundidade de cripta aos 42 dias (SILVA et al., 2015).

Por outro lado, aves alimentadas com sorgo inteiro apresentaram moelas relativamente mais pesadas em comparação àquelas alimentadas com sorgo moído. Pesquisas utilizando sorgo e trigo também observaram aumento da moela quando as aves foram alimentadas com grão inteiro (AMERAH et al., 2011; FERNANDES et al., 2013; SILVA et al., 2014). Este aumento da moela é devido à maior atividade da musculatura para a moagem dos grãos inteiros. Este órgão desempenha papel fundamental em aves alimentadas com sorgo inteiro por ser responsável pela redução do grão a tamanhos menores, possibilitando o processo de digestão. Suas pregas e piloro funcionam como um crivo, impedindo a passagem de partículas grandes para o duodeno (MOORE, 1999). Entretanto, é possível que em aves jovens essa seleção não seja tão eficiente, pois foram observados grão inteiros no interior do intestino delgado e nas fezes de pintainhos durante toda a primeira semana de idade (Figura 9). Em termos de peso absoluto, a utilização exclusiva de sorgo moído ou inteiro não resultou em diferenças no peso da moela e de sua membrana. Porém, o peso da membrana em relação ao peso da moela foi menor com o uso do sorgo inteiro em comparação ao sorgo moído. Esta redução no peso relativo da membrana de revestimento pode ser devido ao aumento da massa muscular da moela sem o aumento na cavidade interna da mesma ou pelo maior desgaste físico da camada de proteoglicanos.

Figura 9 - Presença de sorgo inteiro no lúmen intestinal de pintainhos alimentados com sorgo inteiro, aos três dias de idade

A forma do grão influenciou a metabolizabilidade das rações, sendo que a utilização de sorgo inteiro proporcionou maiores valores de EMA, EMAn e CMMS das rações. Este resultado está de acordo com pesquisas que mostram que ao substituir parte do milho por sorgo inteiro há um aumento no valor de EMAn e de digestibilidade de alguns aminoácidos (BIGGS; PARSONS, 2009; JACOBS; PARSONS, 2013). Do mesmo modo, a substituição de parte de trigo moído por trigo inteiro também aumentou os valores de EMAn, além de aumentar o coeficiente de digestibilidade de diversos aminoácidos (BIGGS; PARSONS, 2009). Maior coeficiente de digestibilidade ileal de nitrogênio também foi observado em aves alimentadas com trigo inteiro quando comparadas àquelas alimentadas com trigo moído (AMERAH et al., 2011). Porém, existem dados divergentes na literatura que indicam não alteração dos valores de EMA e EMAn quando o trigo inteiro é utilizado (AMERAH et al., 2009).

A melhora no desempenho de frangos de corte com a utilização de grãos inteiros tem sido abordada em diversas revisões, sendo esse efeito atribuído principalmente ao desenvolvimento e funcionalidade da moela (LIU et al., 2015; SINGH et al., 2014). De acordo com Liu et al. (2015), a melhora na utilização de energia e na conversão alimentar se deve (a) ao possível aumento na iniciação da digestão proteica pela pepsina e ácido clorídrico e da digestão de amido pela amilase no intestino delgado devido a prévia ruptura dos grânulos de amido em aves com moelas maiores; (b) à possível influência na dinâmica do amido (digestão do amido mais gradual e lenta) associada ao aumento de episódios de peristaltismo reverso.

Devido à inconsistência dos resultados encontrados para o uso de sorgo inteiro a partir de um dia de idade, é comum que a utilização de grão inteiro seja

evitada em rações da fase pré-inicial. Porém, sua inclusão nas demais fases reduz o custo de produção destas rações, devido a economia de energia elétrica pela não moagem deste grão. Quando comparamos a mudança de rações à base de sorgo moído para sorgo inteiro a partir da fase inicial (PSm-Si) com a continuação do uso de sorgo moído (SM100%), não observamos influência sobre o desempenho das aves ao final do período de produção. Entretanto, quando realizada a mudança, foi observado aumento no consumo de ração aos 21 dias com piora no peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar, apresentando aos 28 dias apenas pior conversão alimentar, e aos 35 dias pior peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar. Aves que passaram a receber sorgo inteiro a partir da fase inicial apresentaram comportamento de seleção da ração, preferindo a parte farelada da ração, restando maior quantidade de grãos no comedouro. Deste modo, as aves ingeriram uma ração desbalanceada, com maior nível de proteína (Figura 10). Porém, este efeito não foi observado em aves que já recebiam sorgo inteiro a partir do alojamento. A importância do “aprendizado” precoce do consumo de grão inteiro de sorgo não foi o objetivo deste estudo, mas se trata de uma possibilidade que pode ser mais explorada.

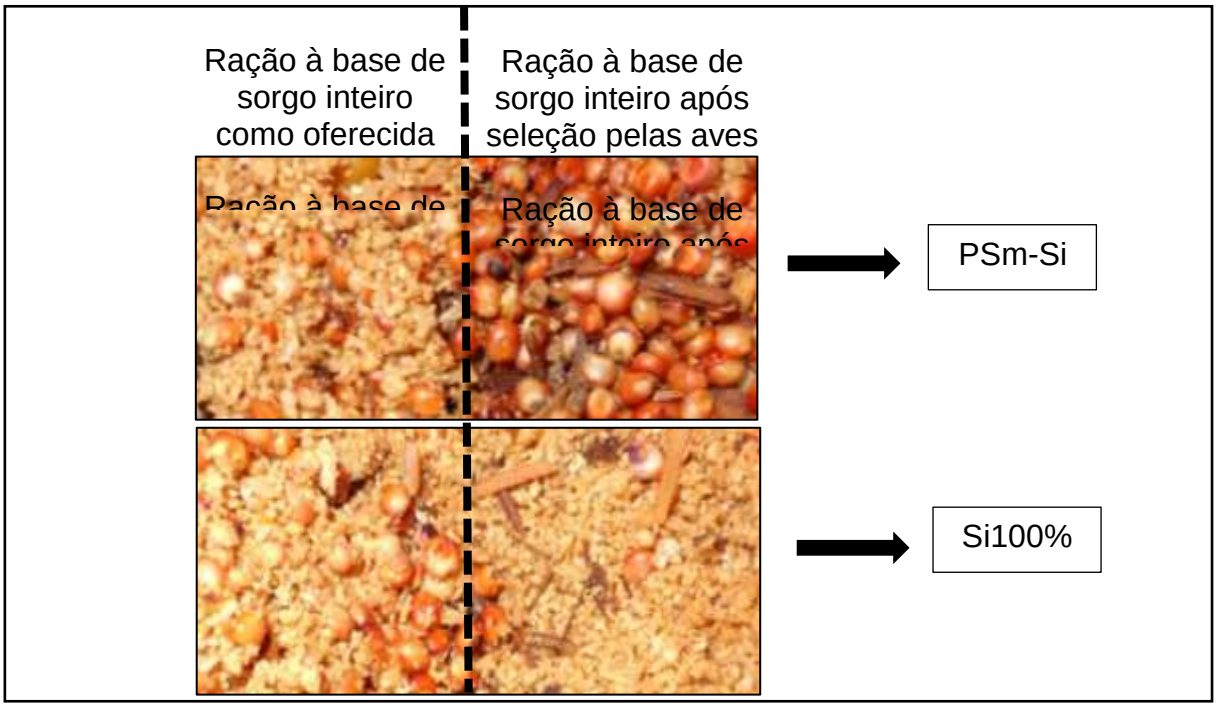

Figura 10 - Ração à base de sorgo inteiro como oferecida e sobra no comedouro após ingestão seletiva das rações por frangos de corte aos 10 dias de idade alimentados com as dietas PSm-Si e Si100%

A mudança do grão de sorgo da forma moída para a forma inteira não alterou as características do jejuno aos 10 dias de idade, mas aumentou o peso da moela e diminuiu o peso de sua membrana. Melhora nos valores de EMA, EMAn e CMMS também foram observados, assim como no uso de sorgo inteiro em todas as fases, sendo o grão inteiro na ração inicial responsável pela melhora de sua metabolizabilidade, independente da forma do grão utilizada na fase anterior. Mesmo a utilização de sorgo inteiro tendo proporcionando maiores valores de metabolizabilidade da energia, essas aves apresentaram períodos de pior desempenho, o que indica um maior gasto energético para manutenção. Esta maior energia de manutenção pode ser justificada pelo aumento da moela, que comprova a adaptação fisiológica da ave frente a mudança da forma do grão oferecido, ocasionando um aumento na utilização de energia e nutrientes para sua maior atividade (HETLAND et al., 2002).

Assim como a mudança na utilização de sorgo moído para sorgo inteiro, a mudança inversa (PSi-Sm) em comparação com a continuação do uso de sorgo inteiro (Si100%) também influenciou no desempenho dos frangos de corte. Desde a primeira semana após a mudança da forma do grão foi observada melhora no peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar, sem alterar o consumo de ração. Esta melhora no desempenho foi observada até os 40 dias de idade. O epitélio jejunal três dias após a mudança não foi alterado. Foi observada uma diminuição do peso relativo da moela e um aumento de sua membrana, mostrando a capacidade da moela de se readaptar frente a utilização de sorgo moído, diminuindo sua atividade, além de recompor a camada de proteoglicanos de sua membrana. Entretanto, a mudança de sorgo inteiro para moído levou a uma piora nos valores de EMA, EMAn e CMMS, mostrando que a melhora proporcionada pelo grão inteiro se faz presente apenas quando o grão inteiro está sendo utilizado, não sendo esta melhora observada após sua retirada. Isso ocorre, pois, a moela se readapta tanto fisicamente quanto funcionalmente, deixando de contribuir para a melhora da metabolizabilidade da dieta.

Uma outra comparação que pode ser realizada é entre aves alimentadas com sorgo moído em todas as fases (Sm100%) e aquelas alimentadas com sorgo inteiro na fase pré-inicial e sorgo moído nas demais fases (PSi-Sm). Aos 40 dias de idade, as aves que inicialmente se alimentaram de sorgo inteiro apresentaram melhor

conversão alimentar com mesmo consumo de ração, peso vivo e ganho de peso. Nas idades anteriores, essas aves apresentaram mesma conversão alimentar, mas menor consumo de ração, peso vivo e ganho de peso, do que aquelas que se alimentaram de sorgo moído em todas as fases. Visto que aves alimentadas com sorgo inteiro apresentaram menor desempenho aos sete dias de idade, estas aves apresentaram uma melhora gradual até os 40 dias de idade, provavelmente devido ao crescimento compensatório. Como nos primeiros dias de vida essas aves tiveram um consumo de ração reduzido, estas ficaram mais leves e consequentemente possuíam um menor custo de mantença, fazendo com que após este período de restrição alimentar, maior proporção da energia e nutrientes fossem direcionados para o crescimento, sendo estes animais mais eficientes (SAHRAEI, 2012). Porém, não foram observadas diferenças relacionadas à moela e à metabolizabilidade das rações, mostrando que estas variáveis não foram influenciadas pela forma de grão utilizada na ração de fase anterior. Aos 10 dias de idade, aves alimentadas inicialmente com sorgo inteiro apresentaram menor altura de vilo no jejuno. Como as aves deixaram de receber sorgo inteiro, consequentemente houve uma queda na metabolizabilidade das rações, sendo que a menor quantidade de nutrientes disponíveis para absorção pode ter levado a uma redução na altura destes vilos. Do mesmo modo, menor altura de vilo no duodeno foi observada em frangos que receberam dieta com menor nível de energia (DUARTE et al., 2012). Adicionalmente, estudos mostram que o período de jejum leva a um aumento na apoptose celular intestinal com diminuição da altura dos vilos (BOZA et al., 1999; YAMAUCHI; TARACHAI, 2000).

De uma maneira geral, estes resultados mostram que a utilização de sorgo inteiro a partir do oitavo dia não prejudica o desempenho de frangos de corte aos 40 dias de idade. Porém, sua utilização logo após o alojamento prejudicou o consumo e consequentemente o desempenho. Por outro lado, essas aves ao mudarem sua alimentação para sorgo moído apresentaram crescimento compensatório e a melhor conversão alimentar ao final do período. A utilização do grão de sorgo inteiro aumentou o peso relativo da moela e os valores de EMA, EMAn e CMMS das rações, sem causar alterações no jejuno. Devido às divergências encontradas na literatura, mais pesquisas são necessárias para avaliar possível influência das linhagens de frangos de corte e dos diferentes cultivares de sorgo sobre o desempenho destas aves.

3.4.2 O uso de sorgo inteiro em rações de frangos de corte altera a microbiota intestinal, especialmente pela diminuição da porcentagem do gênero *Clostridium* no intestino delgado

Os dados desta pesquisa comprovam que a forma de apresentação do grão de sorgo na dieta é capaz de provocar grandes alterações na microbiota intestinal dos frangos de corte. Foi observado distanciamento entre a microbiota do intestino delgado de aves alimentadas com sorgo moído em relação àquelas alimentadas com sorgo inteiro, indicando baixa similaridade entre estes grupos; este efeito foi mais pronunciado em aves aos 21 dias de idade. Entretanto, este efeito não foi observado na microbiota cecal. Estes resultados estão de acordo com o encontrado em pesquisa utilizando trigo, em que a microbiota ileal de frangos alimentados com trigo moído ou inteiro tenderam a estar separadas em “clusters” de lados opostos no dendrograma (AMERAH et al., 2011). Em outra pesquisa utilizando trigo inteiro, também foi observada diferença na estrutura da microbiota ileal, sendo esta justificada pelas diferenças na estrutura da fibra do trigo proporcionadas pela moagem deste grão (AMERAH et al., 2009). O uso de sorgo inteiro alterou as proporções entre as bactérias, mas sem alterar a sua riqueza no intestino delgado. Efeito este sobre a riqueza da microbiota ileal também não observado em pesquisas com o uso de trigo inteiro (AMERAH et al., 2011).

Aos 10 dias de idade, observou-se maior porcentagem dos gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus* em detrimento da porcentagem de *Enterococcus* em frangos de corte alimentados com sorgo inteiro a partir da dieta inicial, independentemente da forma do sorgo utilizado na fase anterior. Porém, aos 21 dias de idade este efeito não foi observado, pelo contrário, observou-se maior porcentagem de *Staphylococcus* em detrimento da porcentagem de *Lactobacillus*, *Alkaliphilus* e *Turicibacter* com o uso de sorgo inteiro após a fase pré-inicial. Complementarmente, nesta idade, o uso de sorgo inteiro na fase pré-inicial resultou em uma menor porcentagem de *Alkaliphilus* e *Turicibacter*. Independentemente da idade, aves alimentadas com sorgo inteiro na fase pré inicial apresentaram maior porcentagem do gênero *Dietzia*. Por outro lado, a utilização de sorgo inteiro após esta fase resultou em um aumento da porcentagem de *Brevibacterium*, *Brachybacterium*, *Jeotgalicoccus*, *Dietzia* e *Bacillus* em detrimento da porcentagem de *Clostridium*.

Este efeito do sorgo inteiro após a fase pré-inicial sobre a diminuição do gênero *Clostridium* também foi observado na família Clostridiaceae, ordem Clostridiales e classe Clostridia, sendo responsável pela diminuição do filo Firmicutes, visto que a classe Bacilli, também deste filo, não foi influenciada pelas dietas. Representado por bactérias Gram-positivas, anaeróbicas e formadoras de esporos, o gênero *Clostridium* possui espécies produtoras de neurotoxinas, endotoxinas, além de outras toxinas e enzimas extracelulares capazes de causar danos à saúde humana e animal (ROOD et al., 1997). Dentre elas, as espécies *Clostridium perfringens* e *Clostridium difficile* são conhecidas por causar enterites de grande importância econômica e sanitária (CARTMAN, 2011). Estudos recentes mostram que a utilização de trigo inteiro reduziu o número de *Clostridium perfringens* no trato intestinal de frangos (BJERRUM et al., 2005). Este resultado está em acordo com a diminuição do gênero *Clostridium* encontrada em nosso estudo, entretanto, a técnica de sequenciamento genético do gene 16s não permite a classificação bacteriana ao nível de espécie. Diminuição do gênero *Clostridium* também foi observada em aves que receberam probióticos em suas dietas (BIERNASIAK; SLIZEWSKA, 2009).

O gênero *Alkaliphilus* é representante da mesma família do gênero *Clostridium*, porém, eles pertencem a clusters diferentes (LUDWIG et al., 2009). Este gênero é formado por bactérias anaeróbicas que utilizam substratos proteicos (extrato de levedura, peptona e triptona) como fonte de energia e fonte de carbono (TAKAI, 2015). Em nossa pesquisa, aves alimentadas apenas com rações à base de sorgo moído apresentaram porcentagem do gênero *Alkaliphilus* 12 vezes maior que os demais tratamentos, o que resultou em significância nos contrastes nos quais esta dieta está presente.

A classe Bacilli, também representante do filo Firmicutes, não foi influenciada pelas dietas. Porém, suas ordens Lactobacillales (família Lactobacillaceae e Enterococcaceae), Bacillales (família Staphylococcaceae e Bacillaceae) e Turicibacterales (família Turicibacteraceae) foram influenciadas pelos diferentes usos do sorgo inteiro nas rações. Pertencente à família Lactobacillaceae e ordem Lactobacillales, as bactérias do gênero *Lactobacillus* são Gram-positivas do grupo de bactérias ácido láticas, encontradas em ambientes ricos em carboidratos (BERNARDEAU et al., 2008). Este gênero possui funções benéficas, como produção de antibióticos e ácidos orgânicos, diminuição do pH e antagonismo competitivo, e

funções não benéficas, como competição por nutrientes (SANDINE, 1979). Entretanto, quando utilizados como probióticos, podem aumentar o desempenho dos frangos de corte e diminuir a deposição de gordura abdominal (JIN et al., 1996, 1998; KALAVATHY et al., 2003). A utilização de trigo inteiro não foi capaz de influenciar o número de bactérias ácido láticas nem o número de *Lactobacillus salivarius* no intestino delgado de frangos de corte, mas levou a um aumento de outros lactobacilus no duodeno/jejuno na quinta semana de vida (ENGBERG, 2004). Outros autores não encontraram efeito do trigo inteiro sobre o número de bactérias do gênero *Lactobacillus* (GABRIEL et al., 2008). Em nosso estudo, o teste de Tukey 5% não foi capaz de detectar diferenças para a porcentagem de *Lactobacillus* aos 10 e 21 dias de idade. Entretanto, os contrastes mostraram aumento deste gênero aos 10 dias de idade e diminuição aos 21 quando as aves foram alimentadas com dietas nas quais o sorgo inteiro estava presente nas rações iniciais. Porém, ao analisarmos as médias independentemente da idade, não foi observada influência da dieta para *Lactobacillus*. O gênero *Pediococcus,* também membro da família Lactobacillaceae, foi maior em aves alimentadas com sorgo inteiro em relação aquelas alimentadas com sorgo moído. Este gênero geralmente traz benefícios para as aves, sendo a espécie *Pediococcus acidlactici* utilizada como probiótico, melhorando o desempenho dos frangos de corte, mesmo frente a desafios de coccidiose (LEE et al., 2007; TAHERI et al., 2010).

Também membro da ordem Lactobacillales, o gênero *Enterococcus*, pertencente à família Enterococcaceae, é composto por bactérias Gram-positivas pertencentes ao grupo de bactérias ácido láticas (FISHER; PHILLIPS, 2009). Este gênero produz enterocinas capazes de agir contra espécies do gênero *Listeria* e *Clostridium*, além de *Staphylococcus aureus* (CAMPOS et al., 2006). Por este motivo, a espécie *Enterococcus faecium* tem sido utilizada como probiótico, melhorando o desempenho das aves (SAMLI et al., 2007). O gênero *Enterococcus* apresentou menor porcentagem em aves com 10 dias de idade alimentadas com sorgo inteiro na fase inicial, sendo este efeito não mais observado aos 21 dias.

Membros da família Staphylococcaceae e ordem Bacillales, os gêneros *Staphylococcus* e *Jeotgalicoccus* apresentaram maior porcentagem no intestino delgado de aves alimentadas com sorgo inteiro a partir da fase inicial, independentemente da forma do grão utilizada na fase anterior. Entretanto, para o *Staphylococcus* este aumento foi observado apenas aos 21 dias de idade.

Staphylococcus são bactérias Gram-positivas responsável por um grande número de infeções tanto em humanos quanto em animais, sendo *Staphylococcus aureus* a espécie patogénica mais importante (KLOOS, 1980). Em frangos, o gênero *Staphylococcus* é mais facilmente encontrado no intestino delgado que nos cecos (DUMONCEAUX et al., 2006; LU et al., 2003), assim como encontrado em nossos resultados. Assim como o gênero *Staphylococcus*, o gênero *Jeotgalicoccus* é composto por bactérias Gram-positivas, tendo sido encontrado no conteúdo jejunal de frangos de corte (NEUMANN; SUEN, 2015).

Também membro da ordem Bacillales, as bactérias do gênero *Bacillus* são da família Bacillaceae e a maioria utilizam a glicose ou outros carboidratos fermentáveis como única fonte de carbono e energia e possuem pouco ou nenhum potencial patogênico, sendo raramente associada a doenças (LOGAN; De VOS, 2009). As bactérias deste gênero possuem papel de destaque na função de probióticos, pois podem ser utilizados na forma de esporos, sendo tolerantes às condições do trato gastrintestinal (BARBOSA et al., 2005; MOLNÁR et al., 2011). Estudos comprovam que a suplementação com *Bacillus subtilis* e *B. coagulans* proporcionam melhora no desempenho, sendo que o primeiro também proporciona melhora no rendimento de carcaça, além de diminuir a concentração de *Escherichia coli* nos intestinos e possivelmente aumentar a resposta imunológica (CAVAZZANI et al., 1998; MOLNÁR et al., 2011). Os esporos de bactérias do gênero *Bacillus* oriundos da própria microbiota intestinal de frangos de corte exibem atividade antimicrobiana contra organismos patogênicos como *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (BARBOSA et al., 2005). A utilização de sorgo inteiro na fase inicial proporcionou aumento do gênero *Bacillus*, sendo que seu efeito antimicrobiano pode ter auxiliado na diminuição do gênero *Clostridium* no intestino delgado dessas aves. Porém, este efeito antimicrobiano não foi suficiente para evitar maior porcentagem de Staphylococcus nestas aves.

Membro do filo Firmicutes, o gênero *Turicibacter* foi classificado pelo GreenGene (2013) como pertencente à classe Bacilli, ordem Turicibacterales e família Turicibacteraceae, mas não existe um consenso sobre esta taxonomia, podendo a família Turicibacteraceae ser incluída na ordem Bacillales (GARRITY et al., 2004). Estudo observou 97% de similaridade da espécie *Turicibacter sanguinis* com uma bactéria ainda desconhecida e menos de 88% de similaridade com o grupo Bacillus (BOSSHARD et al., 2002). Porém, o gênero Turicibacter também é

classificado como membro da família Erysipelotrichaceae, ordem Erysipelotrichales e classe Erysipelotricha (LUDWIG et al., 2009). As bactérias deste gênero são Gram-positivas, anaeróbias e não formadoras de esporos, produzindo lactato como seu principal produto de fermentação (BOSSHARD, 2009). Em nosso estudo, aves alimentadas apenas com sorgo moído apresentaram cerca de 25 vezes mais *Turicibacter* que as demais dietas. Este gênero não se mostrou alterado com a presença de *Clostridium difficile* em frangos de corte (SKRABAN et al., 2013).

Ao contrário da diminuição do filo Firmicutes, aves alimentadas com rações iniciais à base de sorgo inteiro apresentaram maior porcentagem do filo Actinobacteria, da classe Actinobacteria e da ordem Actinomycetales. Do mesmo modo, os gêneros desta ordem *Brevibacterium* (família Brevibacteriaceae), *Brachybacterium* (família Dermabacteraceae) e *Dietzia* (família Dietziaceae) também foram maiores com o uso de sorgo inteiro na fase inicial, sendo que o último gênero também foi maior com o uso do sorgo inteiro na fase pré-inicial. As bactérias dos gêneros *Brachybacterium*, *Dietzia* e *Brevibacterium* são Gram-positivas, aeróbias, sendo a última produtora de biocinas com algumas espécies associadas a infecções humanas (BUCZOLITS; BUSSE, 2012; RAINEY, 2012; TRUJILLO; GOODFELLOW, 2012). O nível destas bactérias no íleo de frangos de corte pode variar de acordo com o substrato presente no lúmen, sendo que o nível de *Brachybacterium* e *Brevibacterium* diminuiu em aves alimentadas com dieta à base de trigo quando comparadas com a adição de complexo enzimático (Van der HOEVEN-HANGOOR et al., 2013). Pesquisas mostraram a presença de *Brevibacterium* e *Brachybacterium* em conteúdo fecal, cama e carcaça de frangos de corte (OAKLEY et al., 2014). Um aumento no nível do gênero *Dietzia* foi observado no íleo de aves alimentadas com probióticos (NAKPHAICHIT et al., 2011).

Nos cecos, o índice de Shannon (riqueza e equidade) não foi alterado pelas dietas nem pela idade. Apenas aos 10 dias de idade, observou-se maior porcentagem dos gêneros *Ruminococcus* e *Escherichia* quando as aves foram alimentadas com sorgo inteiro na ração pré-inicial, sendo que este último gênero teve sua porcentagem nos cecos diminuída com a utilização de sorgo inteiro na ração inicial. Independentemente da idade, aves alimentadas apenas com sorgo moído apresentaram maior porcentagem dos gêneros *Alkaliphilus* e *Enterococcus* do que aquelas alimentadas com sorgo inteiro, além de menor porcentagem do gênero

Anaerofilum, quando comparados com aves inicialmente alimentadas com sorgo inteiro e após a fase pré-inicial com sorgo moído.

Em nosso estudo, cinco gêneros do filo Firmicutes foram influenciados pela dieta, sendo estes classificados nas classes Clostridia (ordem Clostridiales - famílias Clostridiaceae e Ruminococcaceae) e Bacilli (ordem Lactobacillales e família Enterococcaceae). Do mesmo modo que no intestino delgado, o gênero *Alkaliphilus*, pertencente à família Clostridiaceae, mostrou-se em menor porcentagem em aves alimentadas com sorgo inteiro do que quando alimentadas com sorgo moído.

Membro da família Ruminococcaceae, o gênero *Ruminococcus* é composto por bactérias que fermentam fontes de carboidrato a acetato, succinato, lactato e etanol, não sendo capaz de fermentar aminoácidos e peptídeos (EZAKI, 2009). Este gênero encontrou-se aumentado em aves, aos 10 dias, alimentadas com sorgo inteiro na fase pré-inicial. Este gênero tem sido relacionado com a melhora na conversão alimentar, além da espécie *Ruminococcus torques* relacionada a melhora do desempenho das aves (TOROK et al., 2011; STANLEY, 2016). Estudo mostrou que a suplementação de dietas com bacteriocina produzida pelo *Ruminococcus albus* aumentou a absorção intestinal de nutrientes e elevou o número de Lactobacillus, diminuindo a população de bactérias patogênicas (WANG et al., 2011). Outro membro desta família é o gênero *Anaerofilum,* composto por bactérias anaeróbias que fermentam mono e dissacarídeos produzindo lactato, acetato e outros (RAINEY, 2009). Este gênero mostrou-se em maior porcentagem nos cecos de aves suplementadas com monensina e monensina+antibiótico promotor de crescimento (DANZEISEN et al., 2011). Além disso, este gênero possui potencial de transformação da micotoxina deoxinivalenol (DON) em um composto menos tóxico (YU et al., 2010). Em nossa pesquisa, aves que passaram a receber sorgo moído a partir da ração pré-inicial, apresentaram maior porcentagem deste gênero que aquelas alimentadas inicialmente com sorgo moído.

O gênero *Enterococcus*, membro da família Enterococcaceae, produz ácido lático como produto dominante da fermentação da glicose, além de produzir enterocinas contra grupos bacterianos (incluindo *Listeria*) (ŠVEC; DEVRIESE, 2009). Em nossa pesquisa, aves alimentadas apenas com rações à base de sorgo moído apresentaram maior porcentagem deste gênero.

Pertencente ao filo Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria, ordem Enterobacteriales e família Enterobacteriaceae, o gênero *Escherichia* é formado por

bactérias Gram-negativas que fermentam glicose e outros carboidratos produzindo piruvato, o qual é convertido em ácido lático, acético e fórmico, sendo o último quebrado em CO_2 e H_2 (SHEUTZ; STROCKBINE, 2005). Sua principal espécie, *Escherichia coli*, possui cepas não patogênicas, assim como patogênicas, causando importantes doenças intestinais (SHEUTZ; STROCKBINE, 2005). Estudo mostrou que esta espécie pode estar relacionada a melhor performance de aves, possivelmente sendo a cepa *Escherichia coli* Nissle 1917 responsável por esta melhora (TOROK et al., 2011). Em nossa pesquisa, a dieta influenciou a porcentagem deste gênero apenas aos 10 dias, sendo que a mudança de sorgo inteiro para moído resultou em seu aumento.

As diferentes estratégias de uso do grão inteiro de sorgo modificaram as proporções das bactérias presentes no intestino delgado e nos cecos de frangos de corte, sem, no entanto, alterar a riqueza destas populações. De uma maneira geral, a utilização de sorgo inteiro após o sétimo dia de vida, independentemente da forma utilizada na fase anterior, propiciou uma diminuição do gênero *Clostridium* e um aumento das bactérias das ordens Actinomycetales e Bacillales (exceto o gênero *Staphylococcus*), assim como um distanciamento da estrutura de sua microbiota em relação ao sorgo moído no intestino delgado dos frangos de corte. Por outro lado, as alterações nos cecos foram mais discretas, apresentando as aves alimentadas apenas com sorgo inteiro uma menor porcentagem dos gêneros *Alkaliphilus* e *Enterococcus* quando comparadas com aquelas alimentadas apenas com sorgo moído. Adicionalmente, alguns gêneros destes segmentos intestinais sofreram interação entre dieta e idade. Os gêneros são compostos por espécies de bactérias com alto grau de similaridade, porém, espécies patogênicas e benéficas podem fazer parte do mesmo gênero, o que dificulta estabelecer conclusões sobre mudanças benéficas das dietas. De uma maneira geral, a mudança de sorgo moído para sorgo inteiro após sete dias de idade proporcionou melhora na microbiota intestinal principalmente pela redução de *Clostridium* no intestino delgado.

3.5 Conclusões

A utilização de sorgo inteiro após a fase pré-inicial não prejudicou o desempenho de frangos de corte aos 40 dias de idade, aumentou a metabolizabilidade das rações e alterou a estrutura da microbiota intestinal, principalmente pela diminuição da porcentagem de bactérias do gênero *Clostridium*

no intestino delgado, se apresentando como a melhor estratégia para o uso do sorgo inteiro neste experimento.

Referências

AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R.G. Influence of insoluble fiber and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 50, n. 3, p. 366-375, 2009.

AMERAH, A.M.; PÉRON, A.; ZAEFARIAN, F.; RAVINDRAN, V. Influence of whole wheat inclusion and a blend of essential oils on the performance, nutrient utilization, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 52, n. 1, p. 124-132, 2011.

BARBOSA, T.M.; SERRA, C.R.; LA RAGIONE, R.M.; WOOWARD, M.J.; HENRIQUES, A.O. Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 2, p. 968-978, 2005.

BERNARDEAU, M.; VERNOUX, J.P.; HENRI-DUBERNET, S.; GUÉGUEN, M. Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 126, p. 278-285, 2008.

BIERNASIAK, J.; SLIZEWSKA, K. The effect of a new probiotic preparation on the performance and faecal microflora of broiler chickens. **Veterinarni Medicina**, Phaha, v. 54, n. 11, p. 525-531, 2009.

BIGGS, P.; PARSONS, C.M. The effects of whole grains on nutrient digestibilities, growth performance, and cecal short-chain fatty acid concentrations in young chicks fed ground corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, p. 1893-1905, 2009.

BJERRUM, L.; PEDERSEN, A.B.; ENGBERG, R.M. The influence of whole wheat feeding on *Salmonella* infection and gut flora composition in broilers. **Avian Disease**, Ithaca, v. 49, n. 1, p. 9-15, 2005.

BOSSHARD, P.P. Genus VIII. *Turicibacter*. In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A.; SCHLEIFER, K.H.; WHITMAN, W. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p. 1314-1317.

BOSSHARD, P.P.; ZBINDEN, R.; ALTWEGG, M. *Turicibacter sanguinis* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, Gram-positive bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 52, p. 1263-1266, 2002.

BOZA, J.J.; MOENNOZ, F.; VUICHOUD, J.; JARRET, A.R.; GAUDARD-DE-WECK, S.; FRITSCHÉ, R.; DONNET, A.; SCHIFFRIN, E.J.; PERRUISSEAU, G.; BALLÉVRE, O. Food deprivation and refeeding influence growth, nutrient retention and functional recovery of rats. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 129, n. 7, p. 1340-1346, 1999.

BUCZOLITS, S.; BUSSE, H.J. Genus II. *Brachybacterium*. In: GOODFELLOW, M.; KAMPFER, P.; BUSSE, H.J.; TRUJILLO, M.E.; SUZUKIM K.; LUDWIG, W.; WHITMAN, W. (Ed.), **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2012. v. 5, p. 730-737.

CAMPOS, C.A.; RODRIGUEZ, O.; CALO-MATA, P.; PRADO, M.; BARROSVELAZQUEZ, J. Preliminary characterization of bacteriocins from *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus mundtii* strains isolated from turbot (*Psetta maxima*). **Food Research International**, Ottawa, v. 39, p. 356-364, 2006.

CAROLINO, A.C.X.; SILVA, M.C.A.; LITZ, F.H.; FAGUNDES, N.S.; FERNANDES, E.A. Rendimento e composição de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo sorgo grão inteiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1139-1148, 2014.

CARTMAN, S.T. Time to consider *Clostridium* probiotics? **Future Microbiology**, London, v. 6, n. 9, p. 969-971, 2011.

CAVAZZONI, V.; ADAMI, A.; CASTROVILLI, C. Performance of broiler chickens supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 39, p. 526-529, 1998.

DANZEISEN, J.L.; KIM, H.B.; ISSACSON, R.E.; TU, Z.J.; JOHSON, T.J. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 11, p. 1-14, e27949, 2011.

DUARTE, K.F.; JUNQUEIRA, O.M.; BORGES, L.L.; SANTOS, E.T.; MARQUES, R.H.; QUADROS, T.C.O.; DOMINGUES, C.H.F. Desempenho e morfometria duodenal de frangos de corte submetidos a diferentes níveis de energia e programas de alimentação de 42 a 57 dias de idade. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 13, n. 2, p. 197-204, 2012.

DUMONCEAUX, T.J.; HILL, J.E.; HEMMINGSEN, S.M.; VAN KESSEL, A.G. Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 4, p. 2815-2823, 2006.

ENGBERG, R.M.; HEDEMANN, M.S.; STEENFELDT, S.; JENSEN, B.B. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. **Poultry Science**, Champaign v. 83, p. 925-938, 2004.

ERENER, G.; OCAK, N.; OZTURK, E.; OZDAS, A. Effect of different choice feeding methods based on whole wheat on performance of male broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 106, p. 131-138, 2003.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. **Grain:** world markets and trade. Washington, 2016. 56 p.

EZAKI, T. Genus I. *Ruminococcus*. In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A.; SCHLEIFER, K.H.; WHITMAN, W. (Ed.) **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p. 1016-1018.

FERNANDES, E.A.; PEREIRA, W.J.S.; HACKENHAAR, L.; RODRIGUES R.M.; TERRA, R. The use of whole grain in broiler feeds. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 169-286, 2013.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, Washington, v. 155, p. 1749-1757, 2009.

FRONTE, B.; BAYRAM, I.; AKKAYA, A.B.; ROSSI, G.; BACLIACCA, M. Effect of corn particle size and inclusion of organic acid in the diet on growth performance and gastrointestinal structure in young chicks. **Italian Journal of Animal Science**, Pavia, v. 12, n. 93, p. 567-572, 2013.

GABRIEL, I.; MALLET, S.; LECONTE, M.; TRAVEL, A.; LALLES, J.P. Effects of whole wheat feeding on the development of the digestive tract of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 142, p. 144-162, 2008.

GARRITY, G.M.; BELL, J.A.; LIBURN, T.G. **Taxonomic outline of the prokaryotes:** Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. New York: Springer, 2004. 401 p.

HETLAND, H.; SVIHUS, B.; OLAISEN, V. Effect of feeding whole cereal on performance, starch digestibility and duodenal particle size distribution in broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 43, n. 3, p. 416-423, 2002.

JACOBS, C.; PARSONS, C.M. The effects of coarse ground corn, whole sorghum, and a prebiotic on growth performance, nutrient digestibility and cecal microbial populations in broilers fed diets with and without corn distillers dried grains with solubles. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, p. 2347-2357, 2013.

JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, p. 1259-1265, 1998.

JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ADBULLAH, N.; JALALUDIN, S. Influence of dried *Bacillus subtilis* and lactobacilli cultures on intestinal microflora and performance in broilers**.** **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 9, n. 4, p. 397-403, 1996.

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

KLOOS, W.E. Natural populations of the genus *Staphylococcus*. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 34, p. 559-592, 1980.

LEE, S.H.; LILLEHOJ, H.S.; DALLOUL, R.A.; PARK, D.W.; HONG, Y.H.; LIN, J.J. Influence of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, p. 63-66, 2007.

LIU, S.Y.; TRUONG, H.H.; SELLE, P.H. Whole-grain feeding for chicken meat production: possible mechanisms driving enhanced energy utilization and feed conversion. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 55, p. 559-572, 2015.

LOGAN, N.A.; De VOS, P. Genus I. *Bacillus*. In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A.; SCHLEIFER, K.H.; WHITMAN, W. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p. 21-128.

LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J.J.; LEE, M.D. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 11, p. 6816-6824, 2003.

LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K.H.; WHITMAN, W.B. Revised road map to the phylum Firmicutes. In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A.; SCHLEIFER, K.H.; WHITMAN, W. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p. 1-13.

MAXSON, E.D.; FRYAR, W.B.; ROONEY, L.W.; KRISHNAPRASAS, M.N. Milling properties of sorghum grain with different proportions of corneous to floury endosperm. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 48, p. 478-489, 1971.

MOLNÁR, A.K.; PODMANICZKY, B.; KURTI, P.; TENK, I.; GLÁVITS, R.; VIRÁG, G.Y.; SZABÓ, Z.S. Effect of different concentrations of *Bacillus subtilis* on growth performance, carcase quality, gut microflora and immune response of broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 52, n. 6, p. 658-665, 2011.

MOORE, S.J. Food breakdown in avian herbivore: who needs teeth? **Australian Journal of Zoology**, Melbourne, v. 47, p. 625-632, 1999.

MOREIRA, J.; MENDES, A.A.; ROÇA, R.O.; GARCIA, E.A.; NAAS, I.A.; GARCIA, R.G.; PAZ, I.C.L. Efeito da densidade populacional sobre desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne em frangos de corte de diferentes linhagens comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1506-1519, 2004.

NAKPHAICHIT, M.; THANOMWONGWATTANA, S.; PHRAEPHAISARN, C.; SAKOMOTO, N.; KEAWSOMPONG, S.; NAKAYAMA, J.; NITISINPRASERT, S. The effect of including *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, p. 2753-2765, 2011.

NEUMANN, A.P.; SUEN, G. Differences in major population in the intestines of mature broilers after feeding virginiamycin or bacitracin methylene disalicylate. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 119, p. 1515-1526, 2015.

NITSAN, Z. The development of digestive tract in posthached chicks. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY NUTRITION, 10., 1995, Antalya. **Proceedings…** Antalya: WPSA, 1995. p. 21-28.

OAKLEY, B.B.; LILLEHOJ, H.S.; KOGUT, M.H.; KIN, W.K.; MAURER, J.J.; PEDROSO, A.; LEE, M.D.; COLLET, S.T.; JOHNSON, T.J.; COX, N.A. The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 360, p. 100-112, 2014.

RAINEY, F.A. Genus IV. *Anaerofilum*. In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2 ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p. 1022-1023.

_____. Genus I. *Dietzia*. In: GOODFELLOW, M.; KAMPFER, P.; BUSSE, H.J.; TRUJILLO, M.E.; SUZUKIM K.; LUDWIG, W.; WHITMAN, W. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2012. v. 5, p. 301-311.

ROOD, J.I.; McCLANE, B.A.; SONGER, J.G.; TITBALL, R.W. **The clostridia:** molecular biology and pathogenesis. London: Academic Press, 1997. 533 p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:** composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252 p.

RUHNKE, I.; ROHE, I.; KRAMER, C.; BOROOJENI, F.G.; KNORR, F.; MADER, A.; SCHULZE, E.; HAFEEZ, A.; NEUMANN, K.; LOWE, R.; ZENTEK, J. The effects of particle size, milling method and thermal treatment of feed on performance, apparent ileal digestibility, and pH of the digesta in laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 94, p. 692-699, 2015.

SAHRAEI, M. Feed restriction in broiler chickens production: a review. **Global Veterinaria**, Deira, v. 8, n. 5, p. 449-458, 2012.

SAMLI, H.E.; SENKOYLU, N.; KOC, F.; KANTER, M.; AGMA, A. Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. **Archives of Animal Nutrition**, Abingdon, v. 61, n. 1, p. 42-49, 2007.

SANDINE, W.E. Roles of *Lactobacillus* in the intestinal tract. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 42, n. 3, p. 259-262, 1979.

SCHEUTZ, F.; STROCKBINE, N.A. Genus I. *Escherichia*. In BRENNER, D.J.; KRIEG, N.R.; STALEY, J.T. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2005. v. 2, pt. B, p. 607-624.

SILVA, M.C.A.; CAROLINAO, A.C.X.G.; LITZ, F.H.; FAGUNDES, N.S.; FERANDES, E.A. Sorgo grão inteiro na ração preinicial de pintinhos de corte e os efeitos sobre o desenvolvimento corporal e do tubo gastrintestinal. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 18, p. 2769-2782, 2014.

SILVA, M.C.A.; CAROLINO, A.C.X.G.; LITZ, F.H.; FAGUNDES, N.S.; FERNANDES, E.A.; MENDONÇA, G.A. Effects of sorghum on broilers gastrointestinal tract. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 95-102, 2015.

SINGH, Y.; AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V. Whole grain feeding: methodologies and effects on performance, digestive tract development and nutrient utilization of poultry. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 190, p. 1-18, 2014.

SKRABAN, J.; DZEROSKI, S.; ZENKO, B.; TUSAR, L.; RUPNIK, M. Changes of poultry faecal microbiota associated with *Clostridium difficile* colonization. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 165, p. 416-424, 2013.

STANLEY, D.; HUGHES, R.J.; GEIER, M.S.; MOORE, R.J. Bacteria within the gastrointestinal tract microbiota correlated with improved growth and feed conversion: challenges presented for the identification of performance enhancing probiotic bacteria. **Frontiers in Microbiology**, Lousanne, v. 7, p. 1-13, 2016.

STRINGHINI, J.H.; LABOISSIÉRE, M.; MURAMATSU, K.; LEANDRO, N.S.M.; CAFÉ, M.B. Avaliação do desempenho e rendimento de carcaça de quatro linhagens de frangos de corte criadas em Goiás. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 183-190, 2003.

ŠVEC, P.; DEVRIESE, L. Genus I. *Enterococcus*. In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p.594-607.

TAHERI, H.R.; MORAVEJ, H.; MALAKZADEGAN, A.; TABANDEH, F.; ZAGHARI, M.; SHIVAZAD, M.; ADIBMORADI, M. Efficacy of *Pediococcus acidilactici*-based probiotic on intestinal coliforms and villus height, serum cholesterol level and performance of broiler chickens. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 44, p. 7564-7567, 2010.

TAKAI, K. Genus II. *Alkaliphilus* In: De VOS, P.; GARRITY, G.M.; JONES, D.; KRIEG, N.R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.A.; SCHLEIFER, K.H.; WHITMAN, W. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2009. v. 3, p. 828-830.

TOROK, V.A.; HUGHES, R.J.; MIKKELSEN, L.L.; PEREZ-MALDONADO, R.; BALDING, K.; MACALPINE, R.; PERCY, N.J.; OPHEL-KELLER, K. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 17, p. 5868-5878, 2011.

TRUJILLO, M.E.; GOODFELLOW, M. Genus I. *Brevibacterium*. In: GOODFELLOW, M.; KAMPFER, P.; BUSSE, H.J.; TRUJILLO, M.E.; SUZUKIM K.; LUDWIG, W.; WHITMAN, W. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2nd ed. New York: Springer, 2012. v. 5, p. 685-700.

Van der HOEVEN-HANGOOR, E.; Van der VOSSEN, J.M.B.M.; SCHUREN, F.H.J.; VERSTEGEN, M.W.A.; OLIVEIRA, J.E.; MONTIJIN, R.C.; HENDRIKS, W.H. Ileal microbiota composition of broilers fed various commercial diet compositions. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, p. 2713-2723, 2013.

WANG, H.T.; YU, C.; HSIEH, Y.H.; CHEN, S.W.; CHEN, B.J.; CHEN, C.Y. Effects of albusin B 9a bacteriocin) of *Ruminococcus albus* 7 expressed by yeast on growth performance and intestinal absorption of broiler chickens: its potential role as an alternative to feed antibiotics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, p. 2338-2343, 2011.

YAMAUCHI, K.; TARACHAI, P. Changes in intestinal villi, cell area and intracellular autophagic vacuoles related to intestinal function in chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 41, p. 416-423, 2000.

YU, H.; ZHOU, T.; GONG, J.; YOUNG, C.; SU, X.; LI, X.Z.; ZHU, H.; TSAO, R.; YANG, R. Isolation of deoxynivalenol-transforming bacteria from the chicken intestines using the approach of PCR-DGGE guided microbial selection. **BMC Microbiology**, London, v. 10, n. 182, p. 1-9, 2010.

XU, Y.; STARK, C.R.; FERKET, P.R.; WILLIAMS, C.M.; PACHECO, W.J.; BRAKE, J. Effect of dietary coarsely ground corn on broiler live performance, gastrointestinal tract development, apparent ileal digestibility of energy and nitrogen, and digesta particle size distribution and retention time. **Poultry Science**, Champaign, v. 94, n. 1, p. 53-60, 2015.