

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**NÍVEIS DE COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIETA
ALIMENTAR DE NOVILHOS CONFINADOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LESLEI CAROLINE SANTOS

GUARAPUAVA-PR

2019

LESLEI CAROLINE SANTOS

**NÍVEIS DE COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIETA ALIMENTAR DE
NOVILHOS CONFINADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Mikael Neumann

Orientador

GUARAPUAVA-PR

2019

TERMO DE APROVAÇÃO

Leslei Caroline Santos

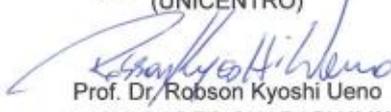
Níveis de complexo enzimático na dieta alimentar de novilhos confinados

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 14 de Fevereiro de 2019.


Prof. Dr. Mikael Neumann
(UNICENTRO)


Prof. Dr. Itacir Eloi Sandini
(UNICENTRO)


Prof. Dr. Robson Kyoshi Ueno
(FACULDADES GUARAPUAVA)


Dr. Marlon Richard H. da Silva
(MÉDICO VETERINÁRIO)

GUARAPUAVA-PR
2019

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DO CEUA

Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

COMITÊ DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 03/2016 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 19 de Fevereiro de 2016

Senhor Pesquisador,

1. Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado: “**Níveis de complexo enzimático para novilhos terminados em confinamento, alimentados com dieta de alta densidade energética**”. parecer do protocolo 035/2015 foi analisado e considerado **APROVADO**, pelo Comitê de Ética em Uso de Animais de nossa Instituição no dia 19 de Fevereiro de 2016.

2. Em atendimento à Resolução 196/96 do CNS, deverá ser encaminhado ao CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.

3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:

– Os *Relatórios Parciais* deverão ser encaminhados ao CEUA assim que tenha **transcorrido um ano da pesquisa**.

– Os *Relatórios Finais* deverão ser encaminhados ao CEUA em até **30 dias após a conclusão da pesquisa**.

– Qualquer alteração na pesquisa que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise do CEUA.

Pesquisadora: Prof. Dr. Mikael Newmann
Atenciosamente,

A Senhora
Prof. Dr. Mikael Newmann
UNICENTRO-CEDETEG

Larissa S. Bernardi
Larissa Sakis Bernardi
Presidente do CEUA
Port. 728/2015-GR/UNICENTRO

AGRADECIMENTOS

Pode até parecer clichê, mas sem Ele nada disso seria possível. Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado à vida e por me permitir chegar aonde cheguei. Sou grata de todo meu coração por Ele ter me segurado e muitas vezes me levantado para vencer todas as etapas até aqui, direcionando minhas escolhas, para que eu conseguisse realizar mais um sonho.

Agradeço em especial minha mãe Marisa que é meu exemplo de vida, por não ter desistido de mim, por me apoiar e sempre estar ao meu lado, me ensinando o caminho certo, valorizando os verdadeiros princípios. À minha irmã Yasmin que sempre acreditou e acredita em mim, pelo seu carinho e confiança, por estar comigo sempre e por ser minha motivação e força para alcançar esses e muitos outros objetivos. Se desejo ser alguém melhor a cada dia, é por você Mim e pela mãe.

Aos meus avós (Tadeu e Izabel) que são a base da nossa família, exemplos de força, dedicação e principalmente de amor, que desde pequena sempre fizeram tudo por mim sem medir esforços, me ensinando dar valor ao que realmente importa.

Agradeço também meu pai Valdeci por todo apoio, pelos ensinamentos, pelas longas conversas, pelos incentivos, pelas felicitações e por vibrar junto comigo a cada conquista.

Ao meu namorado Odemar, companheiro em todos os momentos, sempre me incentivando, me apoiando nos momentos difíceis, ouvindo minhas reclamações e me dando força. Obrigada pelo amor, atenção, carinho que dedica a mim nesses 5 anos de convívio, sendo os mesmos os melhores anos de minha vida.

Ao professor Mikael Neumann meu orientador que me apresentou a nutrição de ruminantes, fazendo me apaixonar por essa área, agradeço pela confiança, pela orientação e pela oportunidade da pós-graduação. Agradeço à família NUPRAN, onde com vocês eu cresci e aprendi muito, obrigada pela cumplicidade, pelas risadas, pelos dias e noites de trabalho, pelo companheirismo, e principalmente por acreditarem em mim.

Enfim num modo geral agradeço a todos os meus familiares, amigos, colegas, que de certa forma tiveram suas participações nessa minha trajetória, me incentivando sempre e me fortalecendo para vencer os desafios e alcançar meus objetivos.

RESUMO

Leslei Caroline Santos. **Níveis de complexo enzimático na dieta alimentar de novilhos confinados.** 2019. 64f. Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO. Dissertação (mestrado em Ciências Veterinárias), Guarapuava.

O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho animal, digestibilidade aparente da dieta e o comportamento ingestivo de novilhos confinados, suplementados com diferentes doses do complexo enzimático (Potenzia®). O produto foi composto por enzimas de ação em polissacarídeos não amiláceos (PNAses) a base de xilanase, celulase, β -glucanase, mananase, α -galactocidase e amilase nas doses de 0; 2,5; 5,0 e 7,5 g animal dia⁻¹. A dieta utilizada foi composta de silagem de milho em uma constante relação de 50% de silagem de milho e 50% de concentrado, na base seca. Foram utilizados 32 novilhos, com peso médio inicial de 321 kg e idade média de 10 meses. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, constituído de quatro tratamentos e quatro repetições, onde cada repetição foi representada por uma baia com dois animais. Após realização de testes de normalidade e homogeneidade, os resultados foram submetidos à análise de variância e comparados, utilizando procedimento de regressão ao nível de 5% de significância. A inclusão de 5 g animal dia⁻¹ do complexo enzimático (Potenzia®) à dieta promoveu melhorias na digestibilidade aparente da dieta e melhor deposição de gordura nas carcaças. O desempenho animal e o comportamento ingestivo de novilhos em confinamento não foram alterados em função das diferentes doses de enzimas à dieta alimentar.

Palavras-Chave: acabamento de gordura, bovinos, confinamento, digestibilidade aparente, enzimas

ABSTRACT

Leslei Caroline Santos. **Enzymatic complex levels in diet of calves confined**. 2019. 64f. Universidade Estadual do Centro Oeste - Unicentro. Dissertation (Master of Veterinary Sciences), Guarapuava.

This essay aimed to evaluate animal performance, diet apparent digestibility and feeding behavior of feedlot steers, supplemented with different doses of an enzyme complex (Potenzia®). The product was composed by enzymes acting in non-starch polysaccharides (NSPs) based in xylanase, cellulase, β -glucanase, mannanase, α -galactosidase and amylase in doses of 0; 2.5; 5.0 and 7.5 grams per animal day⁻¹. The diet used was composed of corn silage in a constant ratio of 50% corn silage and 50% concentrate, on dry basis. 32 steers were used, with initial average weight of 321 kg and an average age of 10 months. The experimental design was of randomized blocks, with four treatments and four repetitions, each repetition representing a stall with two animals. After the execution of the tests for normality and homogeneity, the results were submitted to analysis of variance and compared, using regression procedures to the level of 5% significance. The inclusion of 5.0 grams per animal day⁻¹ of the enzyme complex (Potenzia®) to the diet promoted improvements in the diet apparent digestibility and better disposition of fat in the carcasses. Animal performance and feeding behavior of feedlot steers were not altered by the different doses of enzyme in the diet.

Key-words: finishing of fat cattle, feedlot, apparent digestibility, enzymes

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1. Ilustração de escores fecais.....	42
FIGURA 2. Ilustração do escore das sobras da dieta.....	43

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1.** Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total..... 40
- TABELA 2.** Ganho de peso médio diário, ingestão diária de matéria seca e eficiência alimentar de novilhos com diferentes níveis de enzima incluídos à dieta, conforme período de confinamento..... 45
- TABELA 3.** Ganho de área de olho de lombo, ganho de espessura de gordura subcutânea, ganho de espessura de gordura de picanha, ganho de marmoreio e ganho de ratio das carcaças de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzima incluídos à dieta, ao final de 75 dias de confinamento 48
- TABELA 4.** Produção média de fezes em kg dia⁻¹, base natural ou base seca, teor de matéria seca do esterco e digestibilidade aparente da matéria seca da fibra em detergente neutro e do amido da dieta de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzima incluídos à dieta, conforme período de confinamento..... 49
- TABELA 5.** Comportamento ingestivo (horas dia⁻¹) de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzima incluídos à dieta, conforme período de confinamento. . 52
- TABELA 6.** Comportamento ingestivo quanto aspectos de escore de comedouro e escore de fezes de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzima incluídos à dieta, conforme período de confinamento..... 54

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AOL	Área de Olho de Lombo
ATP	Adenosina trifosfato
Ca	Cálcio
CA	Conversão Alimentar
C _{Ag}	Consumo de Água
Cal	Consumo de Alimento
CEL	Celulose
CEUA	Comitê de Ética em Uso de Animais
Cfb	Subtropical Mesotérmico Úmido
Cm	Centímetro
cm ³	Centímetro Cúbico
Co	Cobalto
CO ₂	Gás Carbônico
Cu	Cobre
CV	Coeficiente de Variância
DA	Digestibilidade do Amido
DFDN	Digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro
DGT	Designer Genes Technology
dL	Decilitro
DMS	Digestibilidade de Matéria Seca
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNS	Ácido 3,5-Dinitrossalicílico
EA	Eficiência Alimentar
EC	Escore de Comedouro
EE	Extrato Etéreo
EF	Escore de Fezes
EGP	Espessura de Gordura da Picanha
EGS	Espessura de Gordura Subcutânea

FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
Fe	Ferro
FSDN	Fibra solúvel
FTS	Produção total de fezes na base seca
g	Gramas
GMD	Ganho de Peso Médio Diário
H ₂	Gás Hidrogênio
IMS	Ingestão de Matéria Seca
IMSD	Ingestão de Matéria Seca Diário, Expresso em kg dia ⁻¹
IMSP	Ingestão de Matéria Seca, Expresso em Porcentagem do Peso Vivo
IU	Unidade Interacional
Kg	Quilograma
LIG	Lignina
M	Marmoreio
m ²	Metro cúbico
Mg	Magnésio
Mg	Miligramas
MHz	Mega Hertz
mL	Mililitro
MM	Matéria Mineral
Mm	Milímetro
Mn	Manganês
MN	Matéria Natural
MS	Matéria Seca
MSF	Matéria Seca de Fezes
Na	Sódio
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
NUPRAN	Núcleo de Produção Animal
Oc	Atividade de Ócio
P	Fósforo
PB	Proteína Bruta

pH	Potencial Hidrogeniônico
PNAses	Polissacarídeos não Amiláceos
PR	Paraná
R	Ratio
S	Enxofre
Se	Selênio
UNICENTRO	Universidade Estadual do Centro Oeste
Zn	Zinco
α	Alfa
β	Beta

SUMÁRIO

TERMO DE APROVAÇÃO.....	II
PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DO CEUA.....	III
AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VI
LISTA DE FIGURA	VII
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IX
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Fermentação ruminal	15
2.2 Ação das bactérias no rume	17
2.3 Ação dos protozoários no rume	19
2.4 Ação dos fungos no rume	20
3. POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS.....	21
4 ENZIMAS EXÓGENAS	22
4.1 Caracterização e mecanismos de ação das enzimas.....	23
4.2 Importância das enzimas na nutrição de ruminantes	24
4.2.1 Celulase e Xilanase	25
4.2.2 Amilase	27
4.2.3 Pectinase	27
4.2.4 Fitase	29
4.2.5 Protease	30
4.2.6 Lipase	31
4.2.7 α -galactosidase	31
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
7. O USO DE ENZIMAS EXÓGENAS COMO PROMOTORAS DE MELHORIAS NA DIGESTIBILIDADE E ACABAMENTO DE GORDURA EM NOVILHOS CONFINADOS	37
RESUMO.....	37
INTRODUÇÃO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
ANEXO 1	60
ANEXO 2	61
ANEXO 3	62
ANEXO 4.....	63

1 INTRODUÇÃO

Com a crescente demanda por produtos de origem animal, como a carne bovina por exemplo, a bovinocultura possui uma enorme necessidade de melhoria na eficiência produtiva, com redução da idade para o abate, melhorias na qualidade da carne e redução dos impactos ambientais inerentes à criação, buscando fortalecer este mercado (Gesualdi et al., 2010).

Para que ocorra esse fortalecimento é necessário melhorar a eficiência do manejo alimentar no rebanho, para gerar um grande impacto econômico nos sistemas de produção de carne e aumentar os índices de produtividade (Medeiros et al., 2015). Segundo Gesualdi et al. (2010), a eficiência econômica do sistema está principalmente relacionada à conversão alimentar do animal, por isso, além da necessidade de animais de boa genética, o máximo aproveitamento de alimentos com elevada qualidade nutricional é vital para a lucratividade do sistema.

Por este motivo, a aplicação de técnicas que incrementem a eficiência de utilização dos alimentos torna-se cada vez mais comum nos confinamentos, pois os gastos com a alimentação representam uma alta proporção nos custos de criação. A utilização de medidas que maximizem o uso dos nutrientes é essencial para manter a sustentabilidade do sistema. Uma alternativa para isso, é a utilização de enzimas ou complexos enzimáticos como aditivos à alimentação dos animais (Oliveira et al., 2015).

As enzimas nos últimos anos se mostraram muito eficientes na nutrição de monogástricos, melhorando o valor nutritivo da dieta e favorecendo a produtividade. Com isso, o uso destes aditivos se tornou mais presente na nutrição de ruminantes, onde seus efeitos podem proporcionar melhora na digestibilidade do alimento e no desempenho animal. Além disso, com o aumento do número de consumidores preocupados com o uso de substâncias promotoras de crescimento e antibióticos para produção animal, não há dúvidas de que as enzimas terão um papel muito importante no futuro (Brito, 2010).

De acordo com Queiroz et al. (2004), as metas para utilização de enzimas são: remover ou destruir os fatores antinutricionais dos grãos, aumentar a digestibilidade total da ração, potencializar a ação das enzimas endógenas e diminuir a poluição ambiental causada por nutrientes excretados nas fezes.

Esta revisão detalhará os efeitos das enzimas na nutrição de ruminantes, mecanismos de ação e particularidades de cada enzima, sendo as mais utilizadas, celulase, xilanase, amilase, pectinase, fitase, protease, lipase e alfa-galactosidase.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fermentação ruminal

Os ruminantes têm a capacidade de utilizar grandes variedades de alimentos como fontes de nutrientes. Isso é possível devido à relação simbiótica do hospedeiro, perante um determinado alimento fornecido, que possibilitam a utilização da parede celular de vegetais e nitrogênio não proteico como fonte de nutrientes. A relação simbiótica se dá da seguinte maneira: o animal garante alimento e um ambiente (rume) para o crescimento dos microrganismos que, por sua parte, supre o animal com ácidos resultantes da fermentação e com proteína microbiana (Kozloski, 2011).

Os alimentos ingeridos pelos ruminantes passam por um processo fermentativo nos pré-estômagos antes de alcançarem o abomaso e o intestino delgado. A proporção e a taxa de fermentação dependem de vários fatores, sendo os mais importantes: a composição da dieta e o nível de consumo, com isso os açúcares e as proteínas solúveis são fermentados rapidamente. O amido, quase sempre, é fermentado de forma rápida, mas a taxa e a proporção com que isso ocorre diminuem com a sua solubilidade. Algumas proteínas presentes na parede celular dos vegetais são fermentadas lentamente e outras passam intactas para os intestinos. A celulose e a hemicelulose são as frações dos alimentos mais lentamente fermentadas (Kozloski, 2011).

O rume é considerado um ecossistema composto principalmente por bactérias, protozoários, fungos anaeróbios e bacteriófagos. Seu meio é anaeróbico com temperatura em torno de 39 à 42°C, pH que varia normalmente entre 6,0 e 7,0 e, com presença permanente de substratos e de atividade fermentativa, embora com intensidades variáveis. O sinergismo, o antagonismo de diferentes grupos de microrganismos e também de gêneros de um mesmo grupo são diversos e de complicado entendimento, porém essenciais (Kamra, 2005).

O resultado destas relações microbianas no rume é a fermentação de componentes dos alimentos (carboidratos e proteínas), transformando-os em subprodutos como ácidos graxos

de cadeia curta, proteína microbiana e vitaminas do complexo B e K, que são utilizados pelo metabolismo do animal (Berchielli et al., 2006).

O alimento ingerido pelo animal proporciona um aporte constante de substratos que é retido por tempo e volume necessário para que os componentes da dieta sejam degradados e fermentados pelos microrganismos ruminais. O tipo de alimento altera o caráter fermentativo no interior do rume, devido à especificidade dos microrganismos em digerir determinados nutrientes da dieta. Contudo, a diferença nos diâmetros do alimento fornecido ao animal pode influenciar na taxa fermentativa e na taxa de passagem, visto que, dietas com moagem fina aumentam a densidade e a ingestão, promovendo rápida passagem do material insolúvel (Valadares Filho; Pina, 2006).

Outro fator importante em relação à fermentação ruminal, são as dietas com alto grau de fermentação, com pouca disponibilidade de fibra, que elevam a produção de ácidos graxos de cadeia curta, o que promove a redução do pH ruminal, afetando o desenvolvimento de algumas espécies de microrganismos que não toleram essas condições (Lana, 2005).

Para que haja uma boa condição para ação dos microrganismos fermentadores de alimento, o meio ruminal deve estar em ausência de oxigênio, isso promoverá uma elevação no potencial redutor do rume. As condições anaeróbicas do rume são mantidas por gases gerados durante a fermentação: gás carbônico, metano e traços de hidrogênio. O oxigênio que entra no rume é consumido por microrganismos facultativos ali presentes, mantendo a condição anaeróbia, assim, somente microrganismos capazes de tolerar um baixo potencial redutor, são capazes de sobreviver (Kamra, 2005).

Outro fator que altera a fermentação ruminal é o pH, pois há um pH ideal para cada tipo de componente microbiano. Sendo assim, o pH abaixo de 6,2 aumenta o tempo de colonização da fibra e inibe a sua degradação. Já as bactérias amilolíticas atuam em uma faixa de pH mais baixo (5,8) (Valadares Filho; Pina, 2006).

A concentração de amônia também influencia na atividade de fermentação de carboidratos estruturais, já que utilizam essa substância como a principal fonte de nitrogênio para síntese de proteína. Sendo a concentração de nitrogênio amoniaco no rume de no mínimo 5,0 mg dL⁻¹ de fluido ruminal (Ribeiro et al., 2001).

Os principais subprodutos da fermentação são os ácidos graxos de cadeia curta, eles são utilizados como fontes de energia para o metabolismo dos ruminantes, podendo também ser usados para gerar ATP no metabolismo intermediário do animal (Berchielli et al., 2006).

As enzimas de modo geral, irão agir no caráter fermentativo no interior do rume, devido à especificidade das mesmas em digerir determinados nutrientes da dieta. Como as enzimas usadas na nutrição de ruminantes são provenientes de fungos e bactérias, juntamente aos microrganismos do rume, irão proporcionar uma maior digestibilidade de alguns componentes conforme o tipo de enzima usada. Promovendo essa alteração na fermentação ruminal, podendo trazer benefícios aos animais, elevando seu desempenho (Valadares Filho; Pina, 2006).

2.2 Ação das bactérias no rume

No meio ruminal as bactérias dispõem de inúmeras especificações e formas, variando entre cocos e bacilos, tamanho que pode ser de 0,5 à 2,0 µm de diâmetro 1,0 a 6,0 µm de comprimento e, se diferenciam também pelo tipo de sua parede celular, podendo ser gram positivas ou gram negativas (Choudhury et al., 2015).

As bactérias gram negativas possuem duas membranas externas interligadas por uma camada menos espessa de glicopeptídeos, já as bactérias gram positivas possuem uma membrana externa simples protegida por uma camada espessa de glicopeptídeos. A maioria das bactérias ruminais são anaeróbias obrigatórias, existindo também algumas anaeróbias facultativa. O pH adequado para o crescimento bacteriano é de 6,0 à 6,9 e, a temperatura deve estar na ordem de 39°C (Kozloski, 2011).

As bactérias ruminais podem ser caracterizadas e agrupadas em função de sua estratégia nutricional ou característica fermentativa comum: fermentadora de carboidratos fibrosos e não fibrosos, proteolíticas (aminolíticas), lácticas, pectinolíticas, lipolíticas, ureolíticas e metanogênicas (Choudhury et al., 2015).

As fermentadoras de carboidratos fibrosos, se associam às fibras dos alimentos degradando os componentes da parede celular dos vegetais, particularmente celulose e hemicelulose. Sua taxa de crescimento é relativamente mais lenta e dependem de amônia e de ácidos graxos de cadeia ramificada para que ocorra a síntese de suas proteínas. Como exemplos de bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos estão a *Ruminococcus albus*, a *Ruminococcus flavefaciens* e a *Fibrobacter succinogenes* (Kamra 2005).

Já as fermentadoras de carboidratos não fibrosos, estão relacionadas à fermentação de partículas de grãos e cereais ou grânulos de amido, degradando carboidratos de natureza não

estrutural: o amido, dextrinas, frutanas e açúcares. Sua taxa de crescimento é mais alta e podem utilizar amônia, aminoácidos ou peptídeos para síntese de suas proteínas. Como exemplos cita-se *Streptococcus bovis*, *Ruminobacter amylophilus*, *Lactobacillus sp.* e *Prevotella sp.* (Kozloski, 2011).

Em relação às bactérias proteolíticas, podemos dizer que a maior parte das bactérias ruminais degradam proteína, porém, existem algumas espécies mais específicas que utilizam principalmente aminoácidos como substratos energéticos, com isso sua atividade proteolítica é bem mais intensa aos demais, a exemplo *Peptostreptococci sp.* e *Clostridium sp.* (Teixeira, 1991).

As bactérias lácticas, se desenvolvem em pH mais baixo e utilizam principalmente o ácido láctico como substrato energético, como exemplo a *Megasphaera elsdeni* e a *Selenomonas ruminantium* (Kozloski, 2011).

Bactérias pectinolíticas, fermentam a pectina, apesar de a pectina ser considerada um polímero de natureza estrutural sua fermentação, assim como as características das bactérias que a utilizam, é semelhante aquelas que fermentam os carboidratos não estruturais, sendo exemplo de bactéria pectinolítica a *Succinivibrio dextrinosolvens* (Kozloski, 2011).

Bactérias lipolíticas hidrolisam triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos, elas não são numerosas no rúmen, visto que, o ambiente ruminal apresenta potencial de oxidorredução muito baixo, característico de ambientes anaeróbicos. Um exemplo dessas bactérias é a espécie *Anaerovibrio lipolytica*, que hidrolisa lipídios e utiliza a ribose, frutose, glicerol e o lactato como fontes de carbono e energia. Esses substratos são fermentados em acetato, propionato e CO₂, enquanto o glicerol é fermentado à propionato e succinato (Kozloski, 2011).

As bactérias ureolíticas, se apresentam aderidas ao epitélio ruminal com a função de hidrolisar ureias, com isso as mesmas acabam liberando amônia para o rúmen, um exemplo é o *Entereococcus faecium* (Kozloski, 2011).

Por fim as bactérias metanogênicas, elas possuem diferenças em relação as demais bactérias ruminais, pela sua estrutura e por serem quimiotróficas. A parede celular dessas bactérias são ausentes e os lipídeos de membrana são éteres de glicerol em vez de ésteres de glicerol. São estritamente anaeróbicas e produzem metano a partir de CO₂ e H₂ (Janssen; Kirs, 2008), sendo consideradas de suma importância para o ecossistema ruminal, pois, auxilia na regulação de fermentação pela remoção das moléculas de H₂ (Choudhury et al., 2015). Como

exemplos de bactérias metanogênicas cita-se a *Methanobacterium sp.* e a *Methanobrevibacter sp.*

2.3 Ação dos protozoários no rume

Os primeiros microrganismos encontrados no rume foram os protozoários, sua população é de 1000.000 a 1.000.000 células mL⁻¹ de conteúdo ruminal (Choudhury et al., 2015). São organismos unicelulares, não patogênicos e anaeróbios, seu tamanho é de até 100 vezes maior que o de uma bactéria (Coelho et al., 2003).

Os protozoários ruminais, são ciliados e podem ser divididos em entodiniomorfos e holotríquias. Os entodiniomorfos ingerem as partículas insolúveis que permanecem suspensas no fluido ruminal e sua presença é prevalente quando a dieta é a base de volumoso. Já os protozoários holotríquias possuem uma capacidade maior de ingerir materiais solúveis e grânulos de amido, portanto, estão presentes quando há uma dieta com uma maior proporção de concentrado (Goel et al., 2015).

Os entodiniomorfos têm características celulolítica e hemicelulolítica, onde os mesmos se aderem às fibras dos alimentos e auxiliam na sua digestão. Os holotríquias têm um perfil enzimático que apresenta amilase, invertase, esterase pectina e poligalacturonase, com isso a dieta dos ruminantes pode ser constituída de amido, pectina e açúcares solúveis como fonte de energia (Kozloski, 2011).

Outra característica peculiar dos protozoários é a sua capacidade de locomoção dentro de um gradiente de concentração de açúcares ou glicoproteínas, a qual é denominada de quimiotactismo. Logo após a ingestão de alimento pelos animais, os protozoários se fixam na parede do retículo e migram para o rume, devido ao aparecimento de açúcares solúveis (Goel et al., 2015).

As bactérias constituem a fonte preferida de nitrogênio para os protozoários, e essa predação pode reduzir o número de bactérias no líquido ruminal. Todos os ciliados ingerem bactérias como a principal fonte de aminoácido e de ácidos nucleicos. Em dietas constituídas de forragem, as bactérias ficam aderidas as fibras evitando o engolfamento. Já em dietas com maior proporção de concentrado esse engolfamento realizado pelos protozoários é mais intenso (Choudhury et al., 2015).

A forma de digestão do material ingerido pelos protozoários é a partir de vacúolos presentes no protoplasma celular. O engolfamento dos grânulos de amido realizado pelos protozoários gera uma degradação mais lenta, comparado a degradação realizada pelas bactérias. Esse processo pode evitar a queda brusca de pH em animais alimentados com dietas ricas em grãos, porém o excesso da ingestão do amido pode ser prejudicial a vida do protozoário (Choudhury et al., 2015).

Mais da metade das proteínas digeridas são excretadas no fluido ruminal na forma de amônia, aminoácidos ou peptídeos, em função disso a presença de protozoários está relacionada com a redução de oferta de proteína microbiana no intestino delgado. Desta forma ocorre o aumento da reciclagem do nitrogênio no rume, além de açúcares e aminoácidos serem fermentados em ácidos graxos voláteis, CO₂ e amônia (Kozloski, 2011).

Os protozoários, ao contrário de produzir, são ativos fermentadores de lactato, reduzindo o efeito depressivo sobre o pH em dietas com alta concentração de amido, além disso, os protozoários são ativos na biohidrogenação de ácidos graxos insaturados (Coalho et al., 2003).

Ao contrário das bactérias, que saem do rume junto à digesta, a maior parte dos protozoários são reciclados no interior desse órgão, aumentando a concentração de amônia e reciclando o hidrogênio total (Goel et al., 2015).

A eliminação dos protozoários do rume pode trazer alguns benefícios. Em dietas com alta energia e ricas em nitrogênio não proteico, a ausência dos protozoários resulta em uma melhoria da performance do animal. A presença de protozoários no rume é um fator fundamental para o processo fermentativo, pois por meio da ingestão do alimento e pelo armazenamento de amido, os protozoários podem controlar o nível de substrato disponível, uniformizando a fermentação entre os intervalos de alimentação (Choudhury et al., 2015).

2.4 Ação dos fungos no rume

Os fungos presentes no rume são anaeróbios e são encontrados em maior população em animais alimentados com dietas fibrosas. Sua colonização ocorre preferencialmente nas fibras, principalmente, nas porções mais lignificadas, como o esclerênquima e comparado às bactérias, sua atividade fibrolítica é mais intensa (Goel et al., 2015).

A penetração dos fungos na parede celular se dá por meio de um sistema rizomicelial, onde ocorre a liberação de polissacarídases extracelulares que agem contra os carboidratos estruturais. Os fungos produzem altas quantidades de celulases e xilanases, porém não degradam pectina (Kozloski, 2011).

Os fungos têm a capacidade de penetrar por meio da cutícula das lâminas foliares de gramíneas e solubilizar a lignina, na qual os principais produtos da fermentação fúngica ruminal são o acetato, lactato, succinato, CO₂ e H₂. A ação dos fungos sobre a parede vegetal diminui a rigidez estrutural das forragens, favorecendo a ruptura das partículas, aumentando a superfície acessível para a ação das bactérias (Goel et al., 2015).

3. POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS

A fibra se origina principalmente da parede celular dos vegetais e consiste de uma mistura complexa de polímeros de carboidratos (polissacarídeos não amiláceos e oligossacarídeos) associados com outros componentes. São resistentes à digestão enzimática no trato gastrointestinal de humanos e animais, e como resultado, chegam até o cólon intactos, servindo como substrato para fermentação bacteriana (Theuwissen; Mensink, 2008).

Os polissacarídeos não amiláceos (PNAses) são também classificados como fibra solúvel (FSDN), possuem participação importante na fermentação ruminal, pois possibilitam um rápido crescimento microbiano sem acúmulo de lactato no rume (Van Soest et al., 1991).

A FSDN é constituída por frutanas que são polissacarídeos de reserva, presente no conteúdo celular e compostos pertencentes à parede celular vegetal, sendo: substâncias pécnicas, galactanas e beta-glucanos, todos solúveis em detergente neutro. A porção alimentar insolúvel em detergente neutro é formada por hemicelulose e celulose, esta última vem acompanhada pela lignina, que não é um carboidrato (Hall, 2003).

As pectinas pertencem ao grupo dos PNAses, estão presentes na lamela média e na parede primária da célula vegetal, são susceptíveis a ação microbiana e não são digeridas pelas enzimas digestivas. As forragens leguminosas contêm de 7% a 14% de substâncias pécnicas e as gramíneas apresentam, uma porcentagem de 2% a 5% (Ezequiel; Galati, 2005).

As fibras solúveis promovem efeitos benéficos à saúde ruminal e intestinal, pois selecionam os microrganismos, realizando a exclusão competitiva de bactérias maléficas. Isso ocorre por adquirirem firmeza na mucosa, pois competem por nutrientes e produzem

substâncias prejudiciais aos microrganismos indesejáveis, exercendo assim, ação de prebiótico (Ferreira; Saad; Pereira, 2008).

4 ENZIMAS EXÓGENAS

As enzimas são classificadas como proteínas globulares, que se apresentam de estrutura terciária e/ou quaternária, agindo como catalisadores biológicos, para acelerar as reações químicas dentro do organismo, onde as mesmas não sofrem nenhum tipo de alteração (Goel et al., 2015).

São proteínas altamente específicas para os substratos, agindo sobre seu sítio de ligação, atuando na ruptura de uma determinada ligação química, ou na síntese de um novo composto, por exemplo, DNA polimerase, sob condições favoráveis de temperatura, pH e umidade (Queiroz et al., 2004).

As enzimas têm sido incorporadas aos alimentos dos animais como aditivos alimentares, com o propósito de melhorar o seu desempenho e com isso a sua rentabilidade. Pode-se agir com a finalidade de complementar quantitativamente as próprias enzimas digestórias dos animais ou auxiliar na sintetização ineficiente do mesmo (Bedford; Partridge, 2010).

As enzimas exógenas caracterizam-se por aumentar a disponibilidade de polissacarídeos de reserva, gorduras e proteínas protegidas da atividade digestória, pelos polissacarídeos da parede celular. Elas têm a função de minimizar os efeitos negativos provocados pelos fatores antinutricionais da dieta, estas aperfeiçoam a atividade enzimática endógena, principalmente em animais jovens que possuem um sistema enzimático imaturo (Queiroz et al., 2004).

Em relação aos ruminantes as pesquisas sobre enzimas possuem ênfase na otimização da digestibilidade da fibra (Bedford; Pastridge, 2010), com a utilização principalmente de celulases e xilanases, e em menor proporção pectinases, proteinases e beta-glucanases, sendo estes com maior utilização na nutrição de aves e suínos (Queiroz et al., 2004).

4.1 Caracterização e mecanismos de ação das enzimas

As enzimas digestivas atuam quando seu sítio ativo se liga a um substrato específico, permitindo que elas realizem a ruptura de uma determinada ligação química, na qual essa ligação formará o complexo enzima-substrato, que será convertido enzima em produto, porém, para que esse mecanismo ocorra, há diversos fatores que influenciam, como: presença de um substrato específico, temperatura do organismo, pH, umidade, concentração da enzima ministrada, susceptibilidade do organismo em receber essas enzimas e a particularidades da dieta utilizada (Vieira, 2003).

Na nutrição animal a classificação dessas enzimas se dá com a ação das mesmas nos substratos, podendo agir degradando fibras, fitato, amido, proteínas, entre outros nutrientes (Beauchemin et al., 2003).

O mecanismo de ação das enzimas exógenas pode ocorrer de forma mais simples como a liberação de carboidratos solúveis ou pode ser exposto de uma forma mais complexa como remoção de íons de barreira estruturais à absorção de nutrientes (Queiroz et al., 2004). Essa liberação se dá conforme o tipo de alimentação fornecida ao animal e o tipo da enzima ministrada. O objetivo é que a enzima adicionada trabalhe associada aos microrganismos presentes no trato digestório do animal, ajudado na liberação de açúcares e outros componentes dos carboidratos complexos (Nogueira et al., 2013).

De acordo com Campestrini et al. (2005), as enzimas podem ser classificadas conforme sua finalidade, sendo destinadas a complementar as próprias enzimas digestórias endógenas dos animais e/ ou sintetizar nutrientes que as enzimas endógenas não podem.

Nos ruminantes o objetivo de inclusão de enzimas é que com esse aumento no ambiente ruminal possa haver potencialização das enzimas endógenas. Essa associação contribui para uma melhora na digestibilidade dos nutrientes ministrados na dieta (Brito, 2010).

Araújo (2005) acreditava que quando introduzisse enzimas exógenas no rume, as mesmas seriam rapidamente degradadas pela matriz de proteases produzidas pelos microrganismos do órgão, porém, atualmente sabe-se que as enzimas adicionadas no organismo podem permanecer ativas no trato digestivo, atuando também para a digestão pós ruminal da fibra, podendo até mesmo melhorar a absorção de nutrientes no trato inferior, reduzindo a viscosidade da digesta intestinal, além disso, elas podem também complementar a

ação das enzimas nas fezes auxiliando na aceleração da decomposição dos dejetos no ambiente.

A atividade de água é um fator de extrema importância que influencia na velocidade das reações enzimáticas, pois enzimas em ausência de água são mais estáveis ao calor, tornando assim mais sensíveis, à medida que aumenta o teor de umidade (Queiroz et al., 2004).

As enzimas podem atuar direto nos alimentos ou indiretamente neles, promovendo atividades digestivas, ou seja, em conjunto com os microrganismos ruminais promovem a liberação de açúcares redutores de alimentos antes do consumo. Porém essa liberação de açúcares depende, do tipo de dieta, do tipo de enzima e da umidade do meio (Campestrini et al., 2005).

Um exemplo prático da ação das enzimas em vacas leiteiras pode ser notado no experimento de Kung (2000), em estudo, ofereceu forragem (silagem de milho 60% e 40% de feno de alfafa) e a inclusão de um complexo de enzimas (xilanase + celulase) em diferentes níveis (0, 1,0 e 2,5 mL kg⁻¹ de forragem). Observou-se que as vacas alimentadas com o baixo nível de enzima tenderam ($P < 0,10$) a produzir mais leite (39,5 kg dia⁻¹), do que as alimentadas com a dieta de controle (37,0 kg dia⁻¹) ou aquelas alimentadas a nível elevado de enzima (36,2 kg dia⁻¹).

Em relação à experimentos feitos com gado de corte, segundo Beauchemin et al. (1995), bovinos alimentados com feno de alfafa e níveis mais baixos de enzima (xilanase + celulase) adicionada (0,25 a 1,0 ml kg⁻¹ de matéria seca), obtiveram como resultado um aumento da ingestão de matéria seca digestível, porém ao adicionar níveis mais elevados da enzima (2,0 e 4,0 ml kg⁻¹ de matéria seca) observou-se resultados não eficientes. Estes trabalhos reforçam a ideia de que a atividade enzimática está inteiramente relacionada com o uso da dosagem ideal da enzima, pois normalmente as respostas dos testes *in vivo* podem não ser lineares.

4.2 Importância das enzimas na nutrição de ruminantes

Existem várias justificativas para a adição de enzimas exógenas nas dietas dos animais, entre elas estão a possibilidade de empregar ingredientes com nutrientes pouco disponíveis aos animais, devido ao fato dos mesmos não terem enzimas para a sua digestão.

Outro ponto a ser considerado, é a necessidade de eliminar os efeitos negativos dos fatores antinutricionais, pois os mesmos resultam em diminuição no crescimento, piora na conversão alimentar, alterações hormonais e esporádicas lesões nos órgãos (Campestrini et al., 2005).

Em relação à nutrição de ruminantes, as enzimas exógenas têm sido aplicadas com intuito de melhorar a digestibilidade da forragem e, conseqüentemente, o consumo voluntário dos volumosos. As respostas obtidas têm sido positivas, melhorando a digestibilidade e desempenho animal, devido ao sinergismo das enzimas endógenas e exógenas, proporcionando um aumento na degradação do alimento fornecido (Queiroz et al., 2004).

Pensando nesses objetivos, as enzimas mais utilizadas para ruminantes são a celulase, a xilanase, a amilase, a pectinase, a fitase, a protease, a lipase e a alfa-galactosidase. Apesar de ainda necessitar de muito estudo em relação à dosagem e mecanismos de ação, os experimentos já realizados mostraram um bom desempenho dessas enzimas nos animais.

4.2.1 Celulase e Xilanase

Celulases são enzimas responsáveis pela degradação da celulose, principal composto presente nas células vegetais. A celulose é um polissacarídeo formado por várias unidades de glicose unidas entre si por meio de ligações químicas. As celulases realizam a quebra das ligações químicas existentes entre as unidades de glicose que formam a celulose (Martins et al., 2008).

No caso das celulases, três enzimas fazem parte desse grupo, elas recebem os nomes de endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases. As endoglucanases agem na região interna da fibra de celulose e liberam compostos menores formados por poucas unidades de glicose, os chamados oligossacarídeos (açúcares pequenos). As exoglucanases agem nas extremidades das fibras de celulose e liberam unidades de glicose (livres) ou celobiose, que são compostos menores, formados por duas unidades de glicose. As β -glicosidases quebram as ligações químicas existentes entre as duas unidades de glicose que formam a celobiose, liberando unidades de glicose (Castro; Pereira, 2010).

A celulase é obtida por meio da extração da fermentação do fungo *Trichoderma viride*, e sua ação no animal ocorrem juntamente com as celulases produzidas pelos microrganismos presentes no rume do animal, aumentando a digestibilidade das fibras da

parede celular vegetal, melhorando a conversão do alimento ingerido (pastagem) em carne e leite (Campestrini et al., 2005).

A hemicelulose é a segunda parte vegetal mais abundante na natureza, caracterizado como um polímero de armazenamento em sementes, também sendo um componente estrutural da parede celular em plantas lenhosas, sendo a xilana a mais abundante das hemiceluloses (Heck; Hertz; Ayub, 2002). O principal papel das xilanase é degradar os carboidratos hemicelulósicos do alimento, além disso, promovem a redução de açúcares em açúcares menores, servindo como nutrientes para as bactérias do rume. Na presença desses xilooligossacarídeos, há uma maior e mais rápida proliferação das bactérias do rume melhorando a eficiência do processo de digestão (Loures, 2004).

Fungos do gênero *Aspergillus* são considerados bons produtores de xilanase, utilizada na nutrição de animais. Os fungos apresentam grande relevância na degradação da fibra, penetrando na cutícula e na parede celular dos tecidos lignificados e no rume, função semelhante a dos fungos da flora ruminal. A adição de xilanases pode alterar as atividades fisiológicas da população bacteriana ruminal (Loures, 2004). Assim, é comum observar aumento na produção de propionato e butirato e menos acetato e metano, resultantes do emprego de enzimas fibrolíticas e melhora na digestibilidade do alimento. Outra vantagem na adição de enzimas é, a redução na liberação de gás metano, uma vez que este, juntamente com o gás carbônico é um dos principais gases responsáveis pelo efeito estufa (Riveira et al., 2010).

Martins et al. (2006) testaram a mistura de xilanase e celulase extraídas dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum* em dietas baseadas em silagem de milho e feno de tifton 85, observaram que estas enzimas não interferiram no consumo de matéria seca, mas promoveram aumento na digestibilidade nas duas dietas, apresentando maior efetividade quando usada na dieta baseada em tifton 85, provavelmente em razão das diferenças na composição química dos volumosos e, conseqüentemente, na atividade hidrolítica das enzimas exógenas no substrato. Isso ocorreu, por que a dieta contendo feno de tifton, apresenta maior proporção de parede celular, em comparação à silagem de milho, podendo ter disponibilizado mais sítios ativos do substrato para a atuação das enzimas testadas, ocorrendo maior liberação de carboidratos solúveis e contribuindo para o aumento da digestibilidade (Martins et al., 2006).

4.2.2 Amilase

A amilase é uma enzima da classe das hidrolases que catalisa o desdobramento do amido e glicogênio ingeridos na dieta. O amido é a forma de armazenamento para a glicose nos vegetais. Foi uma das primeiras enzimas detectadas e descritas na saliva, extrato de trigo, sangue e no malte. Pode ser produzida por bactérias e fungos, como o *Aspergillus oryzae*. É um produto tanto de plantas como de microrganismos, representando, portanto uma das classes mais amplas de enzimas aplicadas nas biotecnologias na química orgânica (Moreno et al., 2013).

As amilases têm a capacidade de catalisar a hidrólise de ligações α -1,4 da amilose, amilopectina e glicogênio, liberando maltose e isomaltose. Sendo de extrema importância associar diversas espécies de bactérias para a fermentação do amido ser completa. A partir dessas hidrólises ocorre uma disponibilidade maior, dos produtos dessa quebra do amido no rume, conseqüentemente alterando o processo de fermentação ruminal (Assis, 2012).

Em dieta de vacas leiteiras com adição de enzimas amilolíticas exógenas, pode-se notar um aumento na produção leiteira, acredita-se que isso pode ser atribuído à maior digestibilidade intestinal do amido, favorecida pelas enzimas, quando passam intactas pelo abomaso. Em contrapartida isso é bastante discutido, pois alguns autores acreditam que a digestibilidade do amido intestinal é drenado via porta para a síntese de omento e não é refletido em produção. Desta forma não tem efeito positivo do uso de amilase (Caetano; Nunes; Lanna, 2010).

Klingerman et al. (2009) obtiveram resultados semelhantes em vacas com adição de enzimas amilolíticas exógenas (0,88 mL de enzima kg de matéria seca⁻¹), apresentando aumento na produção leiteira e digestibilidade de matéria seca em relação ao tratamento de controle.

4.2.3 Pectinase

Substâncias pécticas são macromoléculas glicosídicas de alto peso molecular que formam o maior componente da lamela média, uma fina camada de material adesivo extracelular entre as paredes primárias de células de vegetais superiores. Quimicamente, é um

complexo coloidal de polissacarídeos ácidos, composto de resíduos de ácido galacturônico unidos por ligações α -1,4 (Kozloski, 2011).

A capacidade de absorção de água das pectinas promove aumento do peso e do volume das excretas, no qual seu grau de viscosidade interfere no trânsito da digesta. Por apresentarem relação com a capacidade de troca catiônica da fibra vegetal, são capazes de estabelecer ligação com íons bivalentes, como o zinco, ferro, cálcio e magnésio, na superfície da fibra vegetal, com intervenção na absorção desses minerais (Goel et al., 2015).

As substâncias pécticas podem ser degradadas por enzimas pectinolíticas ou também chamadas de pectinases. As pectinases formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pécticas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica. As enzimas pectinases são produzidas em diferentes combinações pelas plantas e por microrganismos como fungos, leveduras e bactérias. Como existe uma facilidade na produção de pectinases, os fungos filamentosos são os mais usados, porém, eles só liberam essa enzima sobre condição ácida, na faixa de 3,0 a 5,5 de pH. Existem atualmente disponíveis no mercado várias preparações comerciais de pectinases, produzidas por cepas dos gêneros *Aspergillus* e *Trichoderma*. Os preparos enzimáticos apresentam um amplo espectro de atuação na hidrólise de polissacarídeo da parede celular das plantas (Kumar; Suneetha, 2014).

As substâncias pécticas são muito utilizadas nas indústrias de sucos de frutas para reduzir viscosidade, fermentação de chá, extração de óleos vegetais e de polpa de tomate. Na nutrição, são utilizadas com o intuito de reduzirem os efeitos antinutricionais e, em conjunto com outras enzimas para reduzir a viscosidade da ração animal. Elas servem também, para aumentar a absorção e a liberação de nutrientes, por meio da hidrólise das fibras não biodegradáveis e dos nutrientes bloqueados pelas fibras (Kumar; Suneetha, 2014).

Também estão relacionadas com o metabolismo dos lipídios que se dá a nível duodenal pelo processo de absorção de ácidos biliares na matriz da digesta pectinizada. Com isso os lipídios não são disponibilizados para a reabsorção ileal com redução da sua recirculação entero-hepática, indução da liberação do colesterol endógeno para a síntese de ácidos biliares (Eastwood, 1992).

4.2.4 Fitase

A fitase é uma enzima muito utilizada na nutrição de não ruminantes, porém pode ser adaptada para a dieta de ruminantes. É industrialmente obtida por meio dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus ficum* (Brito, 2010). A maior disponibilidade de fósforo nos grãos está apresentada na forma fítica. O rume tem uma grande variedade de fitases microbianas e ampla habilidade em utilizar o fósforo do fitato, porém, pouco se sabe sobre a disponibilidade verdadeira do fósforo nos alimentos fornecidos aos ruminantes (Brito, 2010).

Nos estudos conduzidos por Bravo et al. (2003), foram apresentados valor médio de absorção de fósforo ingerido de 72%, concluindo que o uso de fitase na alimentação de ruminantes, poderia aumentar a disponibilidade de fósforo para absorção.

Bioteχνologias estão sendo aplicadas em relação às enzimas, na qual uma fitase recombinante foi desenvolvida a partir de *Escherichia coli* por clonagem do gene JY35 de *Selenomonas ruminantium*, em que a enzima produzida apresentou atividade específica de quatro a oito vezes maior que a enzima de preparação comercial comum por meio de fungos do gênero *Aspergillus sp.* (Goel et al., 2015).

O fósforo presente nas plantas se encontra armazenado na forma de um complexo orgânico chamado fitato ou ácido fítico ou ácido mio-inositol hexafosfórico, e esta enzima é utilizada para melhorar o aproveitamento desse mineral pelos animais. Além de dificultar a disponibilização de fósforo, o fitato quelata cátions bivalentes como o Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , entre outros, que interfere na absorção de aminoácidos e proteínas pois formam complexos fitato-proteína (Campestrini et al., 2005).

A formação do complexo fitato-proteína pode inibir a atividade da tripsina, pepsina e/ou amilase, sendo assim, pesquisas tem demonstrado que o fitato pode afetar a digestibilidade do amido por interagir com a amilase, influenciando negativamente a digestão dos nutrientes e reduzindo a energia metabolizável da dieta (Lelis et al., 2009).

Contudo, o uso de enzima fitase exógena pode ser interessante na redução da suplementação de rações de animais com fósforo inorgânico, proteína e energia (Campestrini et al, 2005). Apesar de que, no caso de ruminantes, a presença de fitase no rume, em função da presença de microrganismos fíticos, permite que os mesmos utilizem até certo ponto o fósforo inorgânico na forma de ácido fítico (Goel et al., 2015).

A atividade metabólica da degradação do fitato não está totalmente esclarecida em monogástricos e ruminantes, e estudos ainda estão sendo desenvolvidos. Teixeira (2011) observou que em bovinos alimentados com dietas 80% concentrado e 20% silagem de milho, a adição de fitase não foi eficiente nos parâmetros de digestibilidade dos nutrientes, fermentação, cinética ruminal e absorção de fósforo.

Em contrapartida, Bansal e Goel (2015) asseguram que a vantagem em utilizar a suplementação com a enzima fitase é a liberação do fósforo inorgânico e disponibilizá-lo para absorção. Reduzindo a necessidade de suplementação com fósforo na dieta, promove-se a redução da poluição causada pela excreção de fósforo e outros elementos químicos que podem estar atrelados ao ácido fítico, por meio das fezes dos animais.

4.2.5 Protease

As proteínas são compostos nitrogenados, presentes nos alimentos e sua concentração e degradação ruminal variam com a dieta. Da mesma forma que os polissacarídeos, a degradação das proteínas em ambiente ruminal é realizado por sistemas enzimáticos associados à membrana celular de microrganismos. As bactérias proteolíticas representam 12% à 38% da microbiota ruminal e aproximadamente metade da proteína proveniente da dieta é degradada no rume. O restante das proteínas, escapam da degradação ruminal e são hidrolisadas pelas enzimas proteolíticas gastrointestinais produzidas pelos próprios ruminantes (Kozloski, 2011).

A proteólise inicia-se com a atividade das enzimas proteases. Primeiramente as moléculas de proteína são hidrolisadas em oligopeptídeos, particularmente nos pontos de sua cadeia contendo resíduos de serina, cisteína e aspartato. Os oligopeptídeos são então, degradados em aminopeptídeos, liberando dipeptídeos, os quais são fagocitados e hidrolisados em aminoácidos intracelularmente. Os aminoácidos podem ser captados por outras células microbianas e serão convertidos em proteína microbiana e, o restante sofre desaminação sendo convertido em amônia e outros ácidos metabólicos (Kozloski, 2011).

Além das proteínas propriamente ditas, os ácidos nucleicos constituem uma menor fração entre os compostos nitrogenados, representando cerca de 5% à 9% do nitrogênio de gramíneas forrageiras, com exceção dos nucleotídeos presentes em fontes proteicas de origem animal cuja degradabilidade é baixa, os demais são totalmente degradados no rume por

nucleases bacterianas. Após reação de hidrólise são liberados nucleotídeos, nucleosídeos, bases nitrogenadas, ribose e fosfato, os quais são captados e metabolizados pelos microrganismos (Kozloski, 2011).

4.2.6 Lipase

Os lipídios são agrupados em lipídios de reserva (armazenados), lipídios de membrana (estruturais) e uma mistura de outras estruturas moleculares solúveis em éter. Nas forrageiras encontra-se, principalmente, galactolipídeos e fosfolipídeos, enquanto que nos cereais ou oleaginosas basicamente são encontrados triglicerídeos. Após a ingestão, galactolipídeos e triglicerídeos são hidrolisados por lipases associadas à membrana de microrganismos, obtendo como resultado glicerol, galactose e ácidos graxos de cadeia longa saturados e insaturados, visto que, os ácidos graxos não são utilizados pelas bactérias como fonte de energia e com função estrutural (Kozloski, 2011).

4.2.7 α -galactosidase

Os polissacarídeos substratos para essa enzima estão presentes em grão de leguminosas e como exemplos desses polissacarídeos podemos citar: a rafinose (trissacarídeo) e a estaquiose (tetrassacarídeo). A enzima α -galactosidase, também conhecida como α -D-galactosídeo galactohidrolase, é responsável pela hidrólise de ligações α -1,6 galactosídicas encontradas nesses polissacarídeos, liberando a α -D-galactose (Góes; Ribeiro 2002).

Segundo Manzanares, Graaff e Visser (1998), a α -galactosidase pode ser de origem bacteriana ou fúngica, apesar de a produção bacteriana ser em maior quantidade, galactosidases provenientes de fungos são mais fáceis de serem obtidas, por se localizarem na porção extracelular da célula fúngica e, por serem mais estáveis que as enzimas de origem bacteriana, a produção em larga escala para comercialização se torna mais viável.

Góes e Ribeiro (2002) em sua revisão de literatura destacaram trabalhos em que a enzima α -galactosidase pode ser extraída de bactérias como *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bacillus stearothermophilus* e *Thermotoga neopolitana*, assim como de a partir de fungos de gêneros e espécies como *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus*

orizae, Absidia sp, Penecillium duponi, Mortierella vinacea, Saccharomyces sp, Aspergillus niger, Monascus grown, Rhizopus fungi, Trichoderma reesi e Gibberella fujikuroi.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De modo geral, a presente revisão, mostrou que há uma enorme evidência que enzimas exógenas podem melhorar a digestão de alimentos, o ganho de peso ou produção de leite em ruminantes, seguindo dosagens adequadas. Contudo, o mecanismo pelo qual as enzimas exógenas melhoraram a digestão da parede celular da planta é complexo, com muitos fatores envolvidos. Neste contexto, há necessidade de continuar a estudar esses fatores, pois com uma maior compreensão do modo de ação das enzimas, irá permitir ação específica para melhorar a digestão de alimentos em ruminantes, aumentando desempenho e melhorando a conversão alimentar.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, D. M. **Avaliação do farelo de trigo e enzimas exógenas na alimentação de frangas e poedeiras.** 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Cento de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, 2005.
- ASSIS, P. L. F. **Disgestibilidade In Vitro De Milho Moído Sob Três Níveis De Enzima Amilolítica Exógena.** 2012. 30 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Goiás. Goiás, 2012.
- BANSAL. S. E.; GOEL, G. Commercial Application of Rumen Microbial Enzymes. In: Puniya, A.K.; Singh, R.; Kamra, D.N. **Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution.** Nova DEli: Springer, p.281-291, 2015.
- BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z. Use of fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaing, v.8, p.37-47, 2003.
- BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; SEWALT, V. J. H. Fibrolytic enzymes increase fi ber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa. v.75, p.641–644, 1995.

- BEAUCHEMIN, R. A.; RODE, L. M.; MAEKAWA, M.; MORGAVI, D. P.; KAMPEN, R. Evolution of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, p-543-553, 2000.
- BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. Cambridge: FSC Mixed Sources, 2010.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 582p. 2006.
- BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C.; MESCHY, F. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminant. **Reproduction Nutrition Development, EDP Sciences**, Londres, v.43, n.3, p.271-284, 2003.
- BRITO, F.O. **Níveis de complexo enzimático em dietas para ruminantes**. 2010. 76 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de pós Graduação em Zootecnia da Universidade de São Paulo. Pirassununga- SP, 2010.
- CAETANO, M.; NUÑES, A. J. C.; LANNA, D. D. D. Teor de amido fecal em desempenho de bovinos de corte. Anais: 47ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Salvador, 2010.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**. Viçosa, v.2, n.6, p.254-267, 2005.
- CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, São Paulo, v.33, n.1, p.181-188, 2010.
- CHOUHDURY, P. K.; ZEIDAN, M. S.; JENA, R., KUMAR, S.; SINGH, R.; PUNIYA, A. K. Rumen Microbiology: An Overview. In: Puniya, A.K.; Singh, R.; Kamra, D.N. **Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution**. Nova Deli: Springer, 2015.
- COALHO, M. R.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; CUNHA, J. A.; LIMA, C. G. De. Estudo dos protozoários ciliados em bovinos consumindo dietas com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.25, n.1, p.193- 199, 2003.
- EASTWOOD, M. A. The physiological effect of dietary fiber: an update. **Annual Review of Nutrition**, v.12, p.19-35, 1992.
- EZEQUIEL, J. M. B.; GALATI, R. L. Qualidade da matéria prima e novos testes laboratoriais como instrumento de maximização da dieta balanceada. In: 42ª Reunião Anual da

- Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Simpósio sobre Nutrição de Ruminantes**. Goiânia: SBZ, 2005, 296-321.
- FERREIRA, W. M.; SAAD, F. M. O. B.; PEREIRA, R. A. N. Fundamentos da nutrição de coelhos, 2008. Disponível em URL: <http://www.coelhoecia.com.br/Zootecnia/Trabalhos.htm>.
- GESUALDI J. R. A.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; VELOSO, C. M.; CECON, P. R. Níveis de Concentrado na dieta de novilhos F1 Limousin x Nelore: características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.29, n.5, p.1467-1473, 2010.
- GOEL, G.; DAGAR, S. S.; RAGHAV, M.; BANSAL, S. Rumen: An Underutilised Niche for Industrially Important Enzymes. In: Puniya, A.K.; Singh, R.; Kamra, D.N. **Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution**. Nova Deli: Springer, 2015.
- GÓES, S. P.; RIBEIRO, M. L. L. α -galactosidase: aspectos gerais e sua aplicação em produtos a base de soja1. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.23, n.1, p.111-119, 2002.
- HALL, M. B. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**, Champaign , v.81, p-3226–3232, 2003.
- HECK, J. X.; HERTZ, P. F.; AYUB, A. Z. Cellulase and xylanase productions by isolated amazon *bacillus* strains using soybean industrial residue based solid- state cultivation. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v.33, n.3, p.2013-2018, 2002.
- JANSSEN, P. H.; KIRS, M. Structure of the archaeal community of the rumen. **Appl. Environ. Microbiol.** [S.l.] v.74, p.3619–3625, 2008.
- KAMRA, D. N. Rúmen microbial ecosystem. **Current Science**, [S.l.], v.89, n.1, p.124-134, 2005.
- KLINGERMAN, C. M.; HU, W.; McDONELL, E. E.; DERBROSIAN, M. C.; KUNG JUNIOR, L. An evaluation of exogenous enzyme with amyloitic activity for dairy cows. **Journal Dairy Science**. Champaign, v.92, n.3, p.1050-1059, 2009.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3.ed. Editora UFSM: Santa Maria. 212p. 2011.
- KUMAR, P. G.; SUNEETHA, V. A cocktail enzyme – pectinase from fruit industrial dump sites: A review. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, Cambridge, v.2, n.5, p.1252-1259, 2014.

- KUNG, L. J. R. Direct-fed microbial and enzyme feed additives. **Enzyme and Forage Additive Compendium**. Minnesota, v.5, p.15-20, 2000.
- LANA, R. P. **Nutrição e alimentação animal**. 1.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 343p., 2005.
- LELIS, G. R. U.; ALBINO, L. F. T. U.; SILVA, C. R. D. U.; ROSTAGNO, H. S. U.; GOMES, P. C. U.; BORSATTO, C. G. U. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.6, n.2, p.875-889, 2010.
- LOURES, D. R. S. **Enzimas fibrolíticas e emurchecimento no controle de perdas da ensilagem na digestão de nutrientes em bovinos alimentados com rações contendo silagem de capim tanzânia**. 2004, 146 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo, 2004.
- MANZANARES, P.; GRAAFF, L. H.; VISSER, J. Characterization of galactosidases from *Aspergillus niger*: purification of a novel α -galactosidase activity. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v.22, p.383-390, 1998.
- MARTINS, A. S.; VIEIRA, P. F.; BERCHIELLI, T. T.; PRADO I. N.; MOLETTA, J. L. Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com enzimas fibrolíticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.35, n.5, p.2118-2124, 2006.
- MARTINS, A. S.; VIEIRA, P. F.; BERCHIELLI, T. T.; PRADO, I. N. Degradabilidade de volumosos utilizando enzimas fibrolíticas. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, Maringá, v.30, n.4, p.435-442, 2008.
- MEDEIROS, R. S.; GOMES, R. C.; BUNGENSTAB, D. J. **Nutrição de Bovinos de corte: Fundamentos e Aplicações**. Brasília: Embrapa, 2015.
- MORENO, M. L.; PÉREZ, D.; GARCIA, M. T.; MELLATO, E. Halophilic bacteria as a source of novel hydrolytic enzymes. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**. Sevilla, Spain, n.3, v.1, p.38-51, 2013.
- NOGUEIRA, S. C. P.; BERTPÁGLIA L.; LEANDRO, G. S.; REIS, R. A.; JORGE, J. A.; POLIZELI, M. L. T. Estabilidade xilanásica no rúmen e digestibilidade *in vitro* de volumosos tratados com extrato enzimático de *Aspergillus niveus*. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. Ceará, v.7, n.1, p.46-60, 2013.

- OLIVEIRA, L. G.; FERREIRA, R. N.; PADUA, J. T.; ULHOA, C. J.; CYSNEIROS, C. S. S. AND ARNHOLD, E. Performance of beef cattle bulls in feed lots and fed diets containing enzymatic complex. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v.37, p.181-186, 2015.
- QUEIROZ, R. C.; BERGAMASCHINE, A. F.; BASTOS, J. F. P. Uso de produto à base de enzima e levedura na dieta de bovinos: Digestibilidade dos nutrientes e desempenho em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.33, n.6, p.1548- 1556, 2004.
- RIBEIRO, K. G.; GARCIA, R.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R. Eficiência microbiana, fluxo de compostos nitrogenados no abomaso, amônia e pH ruminais, em bovinos recebendo dietas contendo feno de Capim- Tifton 85 de diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, n.30, v.2, p.581-588, 2001.
- RIVEIRA, A. R.; BERCHIELLI, T. T.; MESSANA, J. D.; VELASQUEZ, P. T.; FRANCO, A. V. M.; FERNANDES, B. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. **Revista Brasileira Zootecnia**. Viçosa, v.39, n.3, p.617-624, 2010.
- TEIXEIRA, J. C. Nutrição de ruminantes, Lavras, MG: ESAL/ FAEPE, 1991, 267p.
- TEIXEIRA, S. **Nível de restrição do consumo e uso de fitase em dietas alto grão para bovinos de corte**. 2011. 114 f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- THEUWISSEN, E; MENSINK, R. P. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. **Physiolog & Behavior**, v.94, n.2, p.285–292, 2008.
- VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. **Fermentação Ruminal**. IN: Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 583p., 2006.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. AND LEWIS, B. A. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science, local**, v.74, p-3583-3597, 1991.
- VIEIRA, S. L. **Oportunidade para o uso de enzimas em dietas vegetarianas**. IV SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. Chapecó, 2003, p.91-95.

7. O USO DE ENZIMAS EXÓGENAS COMO PROMOTORAS DE MELHORIAS NA DIGESTIBILIDADE E ACABAMENTO DE GORDURA EM NOVILHOS CONFINADOS

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho animal, digestibilidade aparente da dieta e o comportamento ingestivo de novilhos confinados, suplementados com diferentes doses do complexo enzimático (Potenzia®). O produto foi composto por enzimas de ação em polissacarídeos não amiláceos (PNAse) à base de xilanase, celulase, β -glucanase, mananase, α -galactocidase e amilase nas doses de 0; 2,5; 5,0 e 7,5 g animal dia⁻¹. A dieta utilizada foi composta de silagem de milho em uma constante relação de 50% de volumoso e 50% de concentrado, na base seca. Foram utilizados 32 novilhos, machos inteiros, provenientes do mesmo rebanho, com peso médio inicial de 321 kg e idade média de 10 meses. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, constituído de quatro tratamentos e quatro repetições, onde cada repetição foi representada por uma baía com dois animais. Após realização de testes de normalidade e homogeneidade, os resultados foram submetidos à análise de variância e comparados, utilizando procedimento de regressão ao nível de 5% de significância. A inclusão de 5 g animal dia⁻¹ do complexo enzimático (Potenzia®) a dieta promoveu melhorias na digestibilidade aparente da dieta e melhor deposição de gordura nas carcaças. O desempenho animal e o comportamento ingestivo de novilhos em confinamento não foram alterados em função das diferentes doses de enzimas à dieta alimentar.

Palavras-Chave: aditivo alimentar, bovinos, carcaça, enzimas, melhorador de desempenho

INTRODUÇÃO

A eficiência do manejo alimentar dos rebanhos bovinos é de extrema importância, pois reflete em um maior impacto econômico e aumento nos índices de produtividade. Essa melhora na eficiência do sistema está principalmente relacionada à conversão alimentar do animal, por isso, além de animais com boa genética, o investimento em alimentos de alta qualidade nutricional é muito importante (Medeiros et al., 2015).

34 Os gastos com alimentação representam a maior proporção dos custos totais
35 da produção da pecuária, maximizar a utilização dos nutrientes é essencial para
36 manter a sustentabilidade do sistema. Por este motivo, a aplicação de técnicas que
37 aperfeiçoem a eficiência de utilização dos alimentos torna-se mais comum em
38 confinamentos. Como por exemplo, o uso de enzimas e complexos enzimáticos
39 (Oliveira et al., 2017).

40 Sabe-se que o uso de enzimas em ruminantes pode melhorar o desempenho
41 animal pela sua capacidade de aumentar a digestibilidade dos nutrientes da dieta,
42 tornando-os disponíveis ao metabolismo animal. As possibilidades de combinações
43 de produtos enzimáticos, podem resultar em um alimento que ofereça o máximo de
44 nutrição ao menor custo. Desta forma, um aumento na quantidade de enzimas
45 disponíveis no ambiente ruminal, pode potencializar as enzimas endógenas,
46 contribuindo na melhora da digestibilidade dos nutrientes (Fagundes et al, 2008).

47 O modo de ação das enzimas em ruminantes ainda não está bem definido,
48 visto que, as condições do meio podem interferir significativamente nos seus
49 resultados. Sendo extremamente importante determinar as condições mais prováveis
50 de se obter respostas favoráveis (Brito, 2010).

51 Um empecilho para utilização de enzimas para ruminantes são as doses
52 adequadas dos complexos enzimáticos, no qual subdosagens são ineficientes para
53 provocar uma melhora na digestibilidade e uma superdosagem compete com os
54 microrganismos pelo sítio de ligação não tendo seu efeito desejado (Wallace et al.,
55 2001). Além disso, com o aumento do número de consumidores preocupados com o
56 uso de promotores de crescimento e antibióticos para produção animal, não há
57 dúvidas de que as enzimas terão um papel muito importante no futuro (Brito, 2010).

58 Dentro deste contexto busca-se no presente trabalho estabelecer o melhor nível
59 de adição do complexo enzimático, sobre o desempenho, digestibilidade aparente da
60 dieta e comportamento ingestivo em novilhos confinados.

61

62

MATERIAL E MÉTODOS

63

64 O experimento foi realizado no Núcleo de Produção Animal (NUPRAN) junto
65 ao Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de saúde e produção animal
66 sustentável, do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Estadual do

67 Centro-Oeste (UNICENTRO), localizada em Guarapuava/PR no período de maio à
68 julho de 2016.

69 Todos os procedimentos experimentais foram previamente submetidos à
70 apreciação do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação
71 (CEUA/UNICENTRO), tendo sido aprovados para execução sob o ofício nº 03/2016 de
72 19 de Fevereiro de 2016.

73 Foram utilizados 32 novilhos $\frac{1}{2}$ Angus Nelore, machos inteiros, vindos do
74 mesmo rebanho, com peso médio inicial de 321 ± 5 kg e idade média de 10 meses. Os
75 animais foram alojados em 16 baias de confinamento, semicobertas, com área de 15 m^2 ,
76 com comedouro de concreto e bebedouro regulado por boia. A distribuição dos animais
77 nas unidades experimentais foi realizada com base no peso vivo, área de olho de lombo
78 (AOL) e espessura de gordura da picanha (EGP), obtidos com o auxílio de uma
79 ecocâmara (Aloka® SSD-500 Vet) acoplada a uma probe de 17 cm e 3,5 MHz,
80 conforme software do programa.

81 O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, composto por
82 quatro níveis do complexo enzimático (0; 2,5; 5,0 e $7,5 \text{ g animal dia}^{-1}$), com quatro
83 repetições e dois animais por unidade experimental.

84 O complexo enzimático Potenzia® (Safeeds, Cascavel, Paraná, Brasil), obtido a
85 partir da fermentação dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma reesei*, foi submetido
86 à análise prévia de atividade enzimática, por ensaio com ácido 3,5-dinitrossalicílico
87 (DNS) (adaptado de Miller, 1959), apresentando atividades de 3.117, 2.870, 2.210, 372,
88 11 e 21 U g^{-1} de xilanase, celulase, β -glucanase, mananase, α -galactocidase e amilase,
89 respectivamente. Condições de pH e temperatura dos teste: xilanase: pH 4,5 e 40°C ;
90 celulase: pH 4,8 e 50°C ; β -glucanase, mananase e amilase: pH 5,0 e 40°C ; e α -
91 galactocidase: pH 5,5 e 37°C .

92 O experimento teve duração de 75 dias, sendo 12 dias de adaptação dos animais
93 à dieta e as instalações e três períodos de avaliação de 21 dias cada. A dieta foi
94 constituída por silagem de milho em uma constante relação de 50% silagem de milho e
95 50% de concentrado, na base seca.

96 O concentrado foi elaborado na fábrica de rações da Cooperativa Agrária
97 (Guarapuava/PR, Brasil), formulado a base de farelo de soja, de trigo, milho, casca de
98 soja, radícula de malte, calcário calcítico, fosfato bicálcico, uréia pecuária, sal comum,
99 premix vitamínico mineral e monensina sódica, sendo apresentado na forma peletizada.

100 O manejo alimentar foi realizado duas vezes ao dia (6:00 e 16:00 h) e o consumo

101 foi registrado diariamente, por meio da diferença de peso entre a quantidade oferecida e
 102 sobras do dia anterior. O ajuste no fornecimento foi realizado diariamente, visando
 103 oferta “*ad libitum*”, considerando sobras de 5%, com base na matéria seca da dieta. Os
 104 aditivos (enzimas) foram diluídos e homogeneizados em 200 g de concentrado moído e
 105 fornecidos sobre a dieta no momento de cada alimentação.

106 Durante o período de confinamento, foram colhidas amostras da silagem de
 107 milho e do concentrado para determinação da composição química da dieta
 108 experimental, na base seca (Tabela 1).

109

110 **Tabela 1.** Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e
 111 valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total.

Parâmetro	Silagem de milho	Concentrado	Dieta experimental
Matéria seca, %	33,79	90,33	62,06
Matéria mineral, % MS	2,44	4,56	3,50
Extrato etéreo, % MS	2,72	2,99	2,86
Proteína bruta, % MS	6,65	21,32	13,99
Fibra em detergente neutro, % MS	46,91	30,10	38,51
Fibra em detergente ácido, % MS	25,13	10,09	17,61
Lignina, % MS	4,53	2,25	3,39
Amido, % MS	28,81	35,45	32,13
Nutrientes digestíveis totais, %	70,25	80,78	75,52
Ca, %	0,14	1,67	0,91
P, %	0,22	0,58	0,40

112 ¹ Nível de garantia do premix por kg de concentrado: vit. A: 16000 IU; vit D3: 2000 IU; vit. E: 25 IU; S:
 113 0,36 g; Mg: 0,74 g; Na: 3,6 g; Co: 0,52 mg; Cu: 22,01 mg; Fe: 18,00 mg; I: 1,07 mg; Mn: 72,80 mg; Se:
 114 0,64 mg; Zn: 95,20 mg; e monensina sódica: 40 mg kg⁻¹.

115

116 As amostras foram secas em estufa com ventilação, à 55°C até peso constante, e
 117 sequencialmente moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 1 mm de diâmetro. As
 118 análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) e extrato
 119 etéreo (EE) foram determinadas de acordo com AOAC (1995). Os teores de fibra em
 120 detergente neutro (FDN) foram obtidos conforme método de Van Soest et al. (1991)

121 com α -amilase termoestável e de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG),
122 segundo Goering e Van Soest (1970) e para a determinação dos teores de P e Ca foram
123 realizadas análises de acordo com a metodologia descrita por Tedesco et al. (1995). O
124 coeficiente de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado segundo Weiss et al.
125 (1992). A análise de amido foi realizada, conforme metodologia descrita por Hendrix
126 (1993), baseado na hidrólise de amido contido na amostra, após a extração dos
127 carboidratos solúveis com sucessivas lavagens com álcool 80%, e análise colorimétrica
128 dos açúcares redutores (glicose), com posterior conversão do resultado para amido.

129 Os animais foram pesados no início e no final do experimento, bem como ao
130 final de cada período de avaliação, após jejum sólido de 12 horas, para determinação do
131 ganho de peso médio diário (GMD). A ingestão de matéria seca diária, expressa em kg
132 dia^{-1} (IMSD) ou expresso em porcentagem do peso vivo (IMSP) foi mensurada por
133 meio da diferença entre a quantidade diária de alimento fornecido e a quantidade das
134 sobras de alimentos do dia anterior. Para determinação da conversão alimentar (CA)
135 realizou-se a razão entre a ingestão média diária de matéria seca e o ganho de peso
136 médio diário obtido no período de avaliação (IMSD GMD^{-1}).

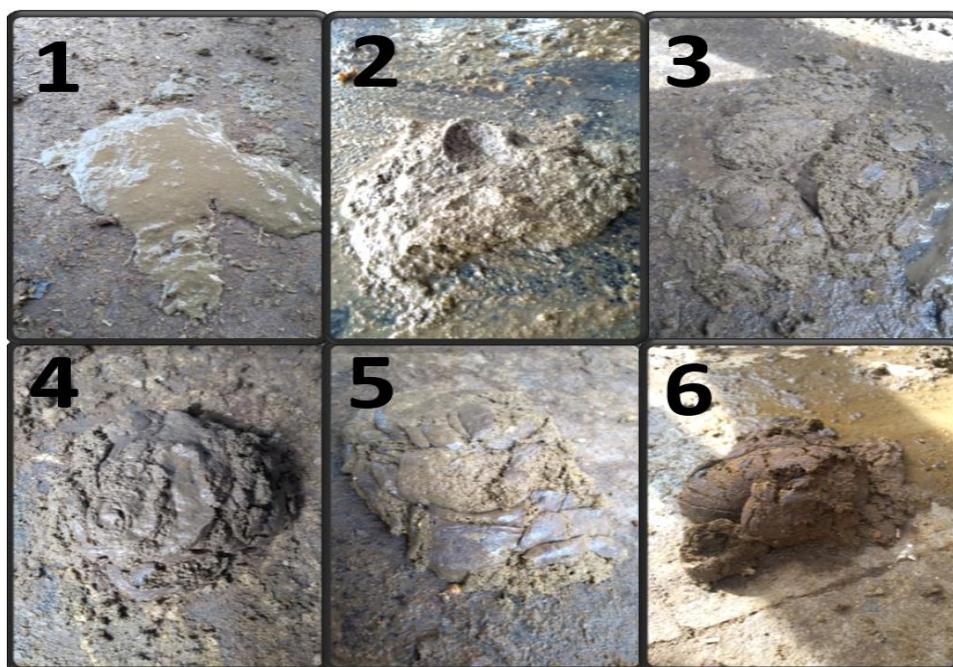
137 Em cada período de confinamento, ocorreu a coleta total de fezes de cada
138 unidade experimental, durante 48 horas consecutivas. As fezes foram pesadas e
139 amostradas ao final de cada turno de seis horas. Posteriormente, foram secas em estufa
140 com ventilação, a 55°C até peso constante e, moídas em moinho tipo *Wiley* com peneira
141 de 1 mm de diâmetro. Tal procedimento permitiu determinação do teor de matéria seca
142 das fezes (MSF), e sequencialmente estimativa da produção total de fezes na base seca
143 (FTS), expressa em kg dia^{-1} de matéria seca.

144 Para obtenção da digestibilidade aparente da matéria seca (DMS), da fibra em
145 detergente neutro (DFDN) e do amido (DA) realizou-se a coleta de amostras
146 homogêneas da dieta e das fezes, para posterior análise. A DMS, a DFDN e a DA,
147 expressa em g kg^{-1} de MS, foi calculada através da fórmula: Digestibilidade $\{1-$
148 $[(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}) \div \text{nutriente ingerido}]\} \times 100$.

149 A análise do comportamento ingestivo dos animais foi realizada por 48 horas
150 consecutivas, em cada período experimental. As observações foram realizadas por 4
151 pessoas por turno, em sistema de rodízio a cada 6 horas. As leituras foram tomadas em
152 intervalos regulares de 3 minutos. O comportamento ingestivo foi representado pelas
153 atividades de ócio, de ruminção, de ingestão de água e de alimento, expressos em horas
154 dia^{-1} . Na observação noturna, o ambiente foi mantido com iluminação artificial.

155 Durante os 75 dias de experimento, diariamente realizou-se a graduação das
156 fezes de cada baía através de escores por meio de observação visual. As fezes foram
157 graduadas através de escores, variando de 1 a 6, sendo: 1= fezes líquidas, pouco
158 consistentes; 2 = fezes líquidas, pouco consistentes, com pilhas pequenas de até 2,5 cm;
159 3=fezes intermediárias com anel concêntrico e pilha de 3 a 4 cm líquidas; 4 = fezes
160 pouco líquidas com anel concêntricos e pilha de mais de 5 cm; 5 = fezes mais secas sem
161 anel concêntricos e pilha de mais de 5 cm; 6 = fezes endurecidas ou ressecadas, com
162 base na metodologia adaptada de Looper et al. (2001) e Ferreira et al. (2013) de acordo
163 com a Figura 1.

164



165

Figura 1. Ilustração de escores fecais.

166

167 Além da graduação do escore das fezes, também foi realizada diariamente a
168 avaliação visual das sobras de dieta. Os escores qualitativos das sobras de cocho foram
169 graduados através de escala variando de 1 a 6, sendo: 1 - 60% silagem e 40%
170 concentrado; 2 - 50% silagem e 50% concentrado; 3 - 40% silagem e 60% concentrado;
171 4 - 30% silagem e 70% concentrado; 5 - 20% silagem e 80% concentrado; e 6 - 10%
172 silagem e 90% concentrado, na base seca, representadas na Figura 2.



Figura 2. Ilustração do escore das sobras da dieta.

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

No início e ao final do experimento, realizou-se a coleta das imagens de ultrassom marca ALOKA modelo SSD 500 VET, através de sonda linear de 17 cm com frequência de 3,5 MHz, da área de olho de lombo (AOL), da espessura de gordura subcutânea (EGS) e espessura de gordura da picanha (EGP) mensuradas entre a região da 12^a e 13^a costelas, transversalmente ao músculo *longissimus dorsi* seguindo as recomendações de Herring et al. (1994). A partir das mensurações de AOL foi calculado o ratio, o qual é representado pela relação entre a altura e a largura do mesmo. As imagens foram interpretadas pelo laboratório responsável pela garantia da qualidade dos dados (Designer Genes Technology) através do software “BIA/DGT Brasil”.

Para a coleta das imagens da AOL e EGS, foi utilizado óleo vegetal para garantir o contato acústico entre a sonda linear e o corpo do animal. A AOL é correlacionada com o rendimento de cortes cárneos de alto valor comercial, da composição da carcaça e do grau de musculosidade do animal. O ratio, por sua vez, também apresenta implicações com o grau de musculosidade do animal. O EGS em valores mais elevados indica precocidade de acabamento da carcaça e a EGP também pode ser considerada da mesma forma como um indicativo de precocidade. Quanto ao marmoreio possui sua importância com relação a suculência e sabor da carne. Este parâmetro foi avaliado, por meio da existência de depósitos de gordura entre as fibras musculares no *Longíssimus dorsi*, e pontuados através de índices crescentes variando de 1 (inexistente) a 5 (excessivo) adaptados do sistema proposto por Müller (1987).

Para os parâmetros avaliados, o delineamento experimental foi o de blocos casualizados, composto por quatro tratamentos, com quatro repetições, em que cada repetição correspondeu a uma baia com dois animais, totalizando 32 novilhos. Após realização de testes de normalidade e homogeneidade, os resultados foram submetidos à

200 análise de variância e comparados utilizando procedimento de regressão ao nível de 5%
201 de significância, por intermédio do programa estatístico SAS (1993). Em relação a
202 avaliação dos períodos experimentais, os dados foram submetidos a análise de variância
203 e posteriormente foi realizado o teste Tukey de comparação múltiplas de médias a 5%
204 de significância, pelo mesmo programa estatístico.

205 A análise de cada variável seguiu o modelo estatístico: $Y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + B_k +$
206 $(S*P)_{ij} + E_{ijk}$; Onde: Y_{ijk} = variáveis dependentes; μ = Média geral de todas as
207 observações; S_i = Efeito da dose de enzima de ordem “i”, sendo 1 = dieta controle, 2 =
208 2,5 g animal dia⁻¹, 3 = 5 g animal dia⁻¹, e 4 = 7,5 g animal dia⁻¹; P_j = Efeito do período
209 de confinamento de ordem “j”, sendo 1 = primeiro período, 2 = segundo período e 3 =
210 terceiro período; B_k = Efeito do bloco de ordem “k”, sendo 1 = primeiro, 2 = segundo e
211 3 = terceiro e 4 = quarto; $(S*P)_{ij}$ = Efeito da interação entre dose de enzima e período de
212 confinamento de ordem “ij” e E_{ij} = Efeito aleatório residual.

213

214

RESULTADOS E DISCUSSÃO

215

216

217 O resumo da análise da variância contido no Anexo 1, indica que não houve
218 interação significativa entre dose de inclusão de enzima e período de confinamento para
219 os parâmetros relativos ao desempenho animal e as ingestões diárias de matéria seca.

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

219 Nos dados apresentados na Tabela 2, observa-se que não houve diferença
220 estatística entre os três períodos de confinamento ($P > 0,05$) referentes ao ganho de peso
221 médio diário, ingestão de matéria seca expresso kg animal dia⁻¹, assim como referentes
222 a conversão alimentar ou eficiência alimentar dos novilhos confinados com diferentes
223 doses de enzima incluída à dieta. Mostrando na média geral valores de 1,348 kg dia⁻¹,
224 8,97 kg dia⁻¹, 6,78 kg MS kg de ganho⁻¹ e 0,150 kg de ganho kg MS⁻¹, respectivamente.

225 Quanto a fase de adaptação, foram encontradas variações aos parâmetros de
226 ganho de peso médio diário, conversão alimentar e eficiência alimentar. Mostrando
227 vantagem ($P > 0,05$) às doses de 5,0 g animal dia⁻¹ (1,706 kg dia⁻¹, 5,28 kg MS kg ganho⁻¹
228 e 0,199 kg ganho kg MS⁻¹) e 7,5 g animal dia⁻¹ (1,734 kg dia⁻¹, 5,12 kg MS kg ganho⁻¹
229 e 0,200 kg ganho kg MS⁻¹) comparativamente aos tratamentos controle (1,583 kg dia⁻¹,
230 5,78 kg MS kg ganho⁻¹ e 0,177 kg ganho kg MS⁻¹) e dose de 2,5 g animal dia⁻¹ (1,529
231 kg dia⁻¹, 5,31 kg MS kg ganho⁻¹ e 0,189 kg ganho kg MS⁻¹), respectivamente.

233 **Tabela 2.** Ganho de peso médio diário, ingestão diária de matéria seca e eficiência
 234 alimentar de novilhos com diferentes níveis de enzima inclusos à dieta, conforme
 235 período de confinamento.

Dieta experimental	Período de confinamento				Média dos períodos
	Adaptação	1º Período 1-21 dias	2º Período 22-42 dias	3º Período 43-63 dias	
Ganho de peso médio diário, kg animal dia ⁻¹					
Controle	1,583	1,357	1,375	1,327	1,353
2,5 g	1,529	1,470	1,107	1,310	1,296
5,0 g	1,706	1,369	1,375	1,417	1,387
7,5 g	1,734	1,387	1,226	1,452	1,355
Média	1,638 a	1,396 b	1,271 b	1,376 b	
Equação regressão*	GMD: 1,348 kg dia ⁻¹ (R ² : 0,009; CV: 19,14%; P<0,4493)				
Ingestão de matéria seca, kg animal dia ⁻¹					
Controle	8,98	9,22	9,19	9,60	9,33
2,5 g	8,05	8,96	8,37	8,84	8,72
5,0 g	8,53	8,93	8,66	9,06	8,88
7,5 g	8,78	8,91	8,81	9,11	8,94
Média	8,58 a	9,00 a	8,76 a	9,15 a	
Equação regressão	IMSD: 9,1914 - 0,2712D + 0,0320D ² (R ² : 0,6989; CV: 7,82%; P<0,0493)				
Ingestão de matéria seca por 100 kg de peso vivo, %					
Controle	2,76	2,65	2,43	2,35	2,48
2,5 g	2,48	2,58	2,22	2,20	2,33
5,0 g	2,58	2,53	2,26	2,19	2,33
7,5 g	2,65	2,52	2,39	2,38	2,43
Média	2,62 a	2,57 a	2,32 b	2,28 b	
Equação regressão	IMSP: 2,5420 - 0,0896D + 0,0111D ² (R ² : 0,6986; CV: 9,05%; P<0,0422)				
Conversão alimentar (Consumo de MS Ganho de peso diário ⁻¹)					
Controle	5,78	6,89	6,85	7,26	7,00
2,5 g	5,31	6,27	7,69	6,92	6,96
5,0 g	5,28	6,59	6,36	6,44	6,46
7,5 g	5,12	6,53	7,35	6,28	6,72
Média	5,37 b	6,57 a	7,06 a	6,73 a	
Equação regressão	CA: 6,79 kg MS kg ganho de peso ⁻¹ (R ² : 0,0236; CV: 17,22%; P<0,2253)				
Eficiência alimentar (Ganho de peso diário Consumo de MS ⁻¹)					
Controle	0,177	0,148	0,150	0,139	0,146

2,5 g	0,189	0,162	0,133	0,148	0,148
5,0 g	0,199	0,153	0,158	0,156	0,156
7,5 g	0,200	0,155	0,139	0,159	0,151
Média	0,191 a	0,155 b	0,145 b	0,151 b	

Equação regressão EA: 0,150 kg ganho de peso kg MS⁻¹ (R²: 0,0210; CV: 18,71%; P<0,2532)

236 Médias, seguidas por letras minúsculas na linha, diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%.

237 * D: Dose de enzima variando de 0 a 7,5 g animal dia⁻¹.

238

239 A partir dos dados obtidos, pode-se observar que na fase de adaptação os
 240 animais ganharam mais peso, consumindo menos alimento e, posteriormente o GMD
 241 reduziu e a IMS aumentou. Esses dados podem ser explicados por Person e Dutson
 242 (1991), no qual afirmam que o crescimento de um ruminante após o nascimento é
 243 semelhante a uma curva sigmoide, cujo o crescimento é lento, mas aumenta
 244 rapidamente. Desacelerando-se a partir da puberdade, até estágios mais avançados,
 245 quando a taxa de crescimento é reduzida. Sugerem ainda que a desaceleração do
 246 crescimento ocorre mais precocemente nos órgãos vitais, em seguida, nos ossos e, após,
 247 nos músculos, ocorrendo aceleração do crescimento dos tecidos adiposos em estágios
 248 mais avançados do crescimento pós-natal.

249 Resultados encontrados por Tricarico et al. (2007) corroboram com o do
 250 presente estudo, pois observaram que a atividade amilolítica das enzimas, induziu o
 251 maior consumo espontâneo de MS no primeiro período de confinamento, fato que
 252 explica o maior GMD e CMSP na adaptação. Estes resultados, também são similares
 253 aos encontrados por Queiroz et al. (2004) onde a adição de complexo enzimáticos não
 254 alterou o CMSP, mas pode-se observar que a adição de enzimas promoveu um menor
 255 consumo sem prejudicar o GMD.

256 O fato do desempenho de GMD, CMSP e CA terem sido superiores nos
 257 períodos de adaptação e início de confinamento, podem ser explicados pelo chamando
 258 ganho compensatório, causado pelo estresse inicial da adaptação ao confinamento e,
 259 também como regra geral, o ganho de peso e o consumo tendem a diminuir com o
 260 passar dos períodos de confinamento, conseqüentemente pode observar uma piora da
 261 conversão e eficiência alimentar (Queiroz et al., 2004).

262 Na média geral, independente dos períodos de confinamento, a dose de enzima
 263 não alterou (P>0,05) o ganho de peso médio diário, a conversão alimentar e a eficiência
 264 alimentar. Já para as variáveis de ingestão de matéria seca, expressos em kg animal dia⁻¹
 265 e em porcentagem do peso vivo houve diferença estatística (P<0,05), onde observou-se

266 um comportamento quadrático com ponto de menor ingestão de matéria seca com a
267 dose de 4,2 g animal dia-1 (8,62 kg de MS dia-1) e de 4,0 g animal dia-1 (2,36% do
268 peso vivo), respectivamente.

269 Em experimento realizado com novilhas de corte em fase de terminação, com
270 adição de 580 unidades dextrinizantes de alfa-amilase por kg de MS em dieta com
271 silagem de milho e adição de milho moído, Tricarico et al. (2008), observaram um
272 aumento na IMS na ordem de 4% e GMD de 14% nos primeiros 28 dias de
273 confinamento. Houve um aumento no rendimento de carcaça pela alta ingestão de
274 matéria seca gerando uma maior disponibilidade de nutrientes e deposição de tecidos
275 constituintes da carcaça. Esses mesmos autores relataram ter encontrado um aumento
276 significativo ($P < 0,05$) na EA dos animais.

277 Oliveira et al. (2015), não encontraram diferença significativa ($P < 0,05$) para
278 GMD e CA dos bovinos confinados, utilizando produtos contendo atividade amilolíticas
279 na dose de 5,0 g animal⁻¹. O autor sugere que a dose administrada da enzima amilase na
280 dieta dos animais tenha sido insuficiente para promover a quebra de um maior número
281 de moléculas do amido da dieta, proveniente principalmente do milho, não ocorrendo,
282 portanto, alteração na fermentação ruminal e maior ingestão voluntária da dieta.

283 O resumo da análise de variância para valores finais (f) de área de olho de lombo
284 (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), espessura de gordura na picanha
285 (EGP), marmoreio (M) e ratio (R) das carcaças e/ou para valores de ganho (g) de área
286 de olho de lombo (AOL), marmoreio (M) e ratio (R) das carcaças de novilhos
287 confinados sob efeito de diferentes doses de enzimas inclusas à dieta (Anexo 2)
288 mostraram que não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) para os parâmetros
289 supracitados. Para os valores de ganho (g) de espessura de gordura subcutânea (EGS) e
290 de espessura de gordura na picanha (EGP) houve diferença ($P < 0,05$).

291 Os dados da Tabela 3 mostram que na média geral, as diferentes doses de
292 enzima inclusa à dieta não alteraram o ganho de área de olho de lombo, de marmoreio e
293 de ratio das carcaças, apresentando valores médios de 28,54 cm², 0,191 pontos e 0,024,
294 respectivamente. Quanto ao ganho de espessura de gordura subcutânea e de espessura
295 de gordura na picanha observou-se um comportamento linear crescente, a partir da
296 equação de regressão, onde a inclusão da cada grama de enzimas na dieta dos novilhos
297 confinados proporcionou um aumento na ordem de 0,0914 mm para EGS e de 0,140
298 mm para EGP.

299

300 **Tabela 3.** Ganho de área de olho de lombo, ganho de espessura de gordura subcutânea,
 301 ganho de espessura de gordura de picanha, ganho de marmoreio e ganho de ratio das
 302 carcaças de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzima incluídos à dieta, ao
 303 final de 75 dias de confinamento.

Parâmetro	Dieta experimental				Média	CV, %	Prob., P<0,005
	Controle	2,5 g	5,0 g	7,5 g			
Área de olho de lombo, cm ²	29,85	26,73	29,56	28,04	28,54	15,87	0,5268
Gordura subcutânea ¹ , mm	3,07	2,77	2,99	3,76	3,15	20,55	0,0230
Gordura da picanha ² , mm	3,40	3,85	3,99	4,56	3,95	17,24	0,0315
Marmoreio, pontos	0,196	0,221	0,146	0,200	0,191	24,13	0,9000
Ratio	0,018	0,023	0,041	0,014	0,024	22,32	0,1925

304 ¹ $Y = 2,8072 + 0,0914D$ ($R^2: 0,6990$; CV: 26,02%; $P<0,0330$), onde D representa dose de enzima
 305 variando de 0 a 7,5 g animal dia⁻¹.

306 ² $Y = 3,4100 + 0,1440D$ ($R^2: 0,6497$; CV: 25,96%; $P<0,0388$)

307

308 O complexo enzimático usado no presente experimento possui ação em
 309 polissacarídeos não amiláceos, ou seja, age na quebra de carboidratos fibrosos. De
 310 acordo com Kozloski (2011), a quebra de carboidratos no rume promove a liberação de
 311 ácidos graxos de cadeia curta onde o ácido com maior produção nesse caso é o ácido
 312 acético. O ácido acético entra na circulação sanguínea e posteriormente se deposita no
 313 tecido adiposo, contribuindo para a deposição de gordura nos tecidos. Com isso
 314 acredita-se que a inclusão do complexo enzimático favoreceu a deposição de gordura
 315 subcutânea e de picanha pela maior quebra de carboidratos.

316 Acredita-se também que a inclusão das enzimas exógenas, pode ser
 317 determinante para mudanças na fermentação ruminal, o que indiretamente influencia na
 318 deposição de gordura de novilhos em terminação. Em experimento com doses de
 319 complexo enzimático em dieta 100% concentrado Vigne et al. (2018) observaram um
 320 comportamento linear para os parâmetros de EGS e EGP, onde conforme o aumento na
 321 dose da enzima o ganho para esses parâmetros também aumentou.

322 De acordo com Tricarico et al. (2008), avaliando diferentes níveis de alfa-
 323 amilase em novilhas obteve distribuição quadrática para o parâmetro AOL, onde
 324 atribuíram esse efeito pela melhora no ganho de peso dos animais, o que não pode ser
 325 comprovado no presente estudo, porém esses mesmos autores obtiveram resultados

326 semelhantes para espessura de gordura subcutânea que apresentou uma diferença
 327 significativa ($P < 0,05$). Segundo Brito (2010) avaliando ovinos com a adição de um
 328 complexo enzimático à dieta, observou-se que o uso da enzima não influenciou os
 329 parâmetros de AOL e EGS.

330 Na Tabela 4 é apresentado a matéria seca do esterco, produção média de fezes
 331 em kg dia^{-1} , base natural ou base seca, digestibilidade da FDN e do amido e a
 332 digestibilidade aparente das dietas de novilhos terminados em confinamento sob efeito
 333 de doses de enzimas inclusas à dieta. Não houve efeito significativo das enzimas e/ou
 334 do período de avaliação sobre o parâmetro relativo ao teor de matéria seca do esterco
 335 das dietas de novilhos em confinamento, apresentando valor médio de 17,05%.

336 Na análise dos períodos de avaliação, observou-se diferença significativa
 337 ($P < 0,05$) para produção de fezes, tanto na base natural ou base seca, assim como para a
 338 digestibilidade aparente da MS, digestibilidade da FDN e a digestibilidade do amido.
 339 Maiores produções de fezes ($P < 0,05$), na base natural ou base seca, foram observadas
 340 no segundo (17,01 e 2,87 kg dia^{-1}) e terceiro período (16,60 e 2,84 kg dia^{-1}),
 341 comparativamente ao primeiro período (14,90 e 2,84 kg dia^{-1}), respectivamente. A
 342 digestibilidade aparente da dieta foi menor no segundo (67,05%) e terceiro período
 343 (68,83%) comparativamente ao primeiro período (72,34%) de confinamento. A
 344 digestibilidade da FDN foi maior e menor no primeiro (58,07%) e segundo período
 345 (49,06%) comparado com o último período (52,56%) de avaliação. Já a digestibilidade
 346 do amido pode-se observar diferença entre o primeiro e o terceiro período apresentando
 347 valores médios de 95,70% e 94,88%, respectivamente.

348

349 **Tabela 4.** Produção média de fezes em kg dia^{-1} , base natural ou base seca, teor de
 350 matéria seca do esterco e digestibilidade aparente da matéria seca da fibra em detergente
 351 neutro e do amido da dieta de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzimas
 352 inclusos à dieta, conforme período de confinamento.

Dieta experimental	Período de Confinamento			Média
	1º Período 1-21 dias	2º Período 22-42 dias	3º Período 43-63 dias	
	Produção de esterco, kg dia^{-1} de MN^{-1}			
Controle	15,83	17,18	17,90	16,97
2,5 g	14,40	15,77	15,73	15,30
5,0 g	13,93	17,19	15,69	15,60

7,5 g	15,46	17,89	17,10	16,82
Média	14,90 b	17,01 a	16,60 a	
Equação regressão*	PEMN: 16,9155 - 0,8703D + 0,1152D ² (R ² : 0,1347; CV: 11,65%; P<0,0386)			
Matéria seca do esterco, %				
Controle	16,72	17,12	16,91	16,92
2,5 g	17,41	17,02	17,50	17,31
5,0 g	16,95	16,31	17,12	16,79
7,5 g	17,18	17,27	17,09	17,18
Média	17,07 a	16,93 a	17,16 a	
Equação regressão	MSF: 17,05 % (R ² : 0,0018; CV: 4,64%; P<0,9612)			
Produção de esterco, kg dia de MS ⁻¹				
Controle	2,65	2,94	3,03	2,87
2,5 g	2,49	2,68	2,75	2,64
5,0 g	2,36	2,78	2,67	2,60
7,5 g	2,64	3,09	2,92	2,88
Média	2,54 b	2,87 a	2,84 a	
Equação regressão	PFMS: 2,8781 - 0,1524D + 0,0203D ² (R ² : 0,1685; CV: 10,59%; P<0,0157)			
Digestibilidade aparente da dieta, %				
Controle	71,71	67,07	68,51	69,10
2,5 g	72,30	67,92	68,83	69,68
5,0 g	73,81	68,31	70,29	70,80
7,5 g	71,53	64,91	67,67	68,04
Média	72,34 a	67,05 c	68,83 b	
Equação regressão	DMS: 68,8753 + 0,9254D - 0,1344D ² (R ² : 0,1842; CV: 4,27%; P<0,0381)			
Digestibilidade da fibra em detergente neutro, %				
Controle	57,45	49,61	51,43	52,83
2,5 g	58,59	51,12	52,98	54,23
5,0 g	60,52	50,30	54,66	55,16
7,5 g	55,70	45,20	51,18	50,69
Média	58,07 a	49,06 c	52,56 b	
Equação regressão	DFDN: 52,5835 + 1,5402D - 0,2346D ² (R ² : 0,5922; CV: 9,67%; P<0,0135)			
Digestibilidade do amido, %				
Controle	95,50	94,43	95,00	94,98
2,5 g	95,57	95,01	95,60	95,39
5,0 g	96,02	95,58	95,92	95,84
7,5 g	95,68	94,49	95,20	95,12

Média	95,70 a	94,88 b	95,43 ab
Equação regressão	DA: $94,9170 + 0,3760D - 0,0454D^2$ (R^2 : 0,3279; CV: 0,85%; $P < 0,0460$)		

353 Médias, seguidas por letras minúsculas na linha, diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%.

354 * D: Dose de enzima variando de 0 a 7,5 g animal dia⁻¹.

355

356 Em relação à digestibilidade aparente da dieta, pode-se observar que a partir da
 357 quantidade de alimento ingerido, o animal pode produzir um maior volume de fezes,
 358 como ocorreu nos dois últimos períodos, a digestibilidade reduziu e a produção de fezes
 359 aumentou, ou seja, nos últimos períodos a adição das enzimas não promoveu um maior
 360 aproveitamento dos nutrientes em comparação com o primeiro período.

361 Quanto às doses de enzimas avaliadas, independente dos períodos de
 362 confinamento, as produções de esterco, base natural ou seca, diferiram
 363 significativamente ($P < 0,05$), onde observou-se um comportamento quadrático com
 364 ponto de menor produção de esterco com a dose de enzima de 3,8 g animal dia⁻¹ na base
 365 natural (15,27 kg de MN dia⁻¹) ou na base seca (2,59 kg de MS dia⁻¹). Para a
 366 digestibilidade aparente da MS da dieta, houve comportamento inverso, com ponto de
 367 máxima digestibilidade com a dose de enzima de 3,4 g animal dia⁻¹ (69,94%), assim
 368 como para digestibilidade da fibra em detergente neutro e digestibilidade do amido, com
 369 pontos de máxima digestibilidade nas doses de enzima de 3,3 g animal dia⁻¹ e 4,1 g
 370 animal dia⁻¹, respectivamente.

371 Martins et al. (2006), avaliando silagem de milho e feno de tifton 85, não
 372 observaram diferença significativa para a digestibilidade aparente da dieta, adicionando
 373 12 g animal dia⁻¹ de complexo enzimático à base e xilanases e celulasas para bovinos
 374 confinados, porém a adição de enzimas aumentou a digestibilidade total de FDN, de
 375 FDA e de CEL (celulose) de 36,87; 36,21 e 46,89%, para 41,19; 40,01 e 50,46%,
 376 respectivamente.

377 Os mesmos autores explicam que neste experimento houve um aumento na
 378 digestibilidade dos constituintes da parede celular, por que a adição de enzimas
 379 exógenas (celulase e hemicelulase) promove o aumento da atividade da celulase e
 380 xilanase no rume (Martins et al., 2006).

381 Morgavi et al. (2000), avaliando o efeito da combinação de enzimas extraídas do
 382 fungo *Trichoderma longibrachiatum* na degradação da silagem de milho, observaram
 383 que a complexidade da estrutura química da silagem de milho causou variações nas

384 respostas com a combinação destas misturas enzimáticas. Segundo esses autores, a
385 celulase seria mais limitante na degradação da fibra da silagem de milho que a xilanase.

386 Queiroz et al. (2004), avaliando ação de enzimas com levedura em dieta 65%
387 silagem e 35% concentrado, também não observaram diferença ($P>0,05$) para
388 digestibilidade aparente da dieta, sob adição do aditivo nos níveis de enzima de 5 g ou
389 10 g animal dia⁻¹. Todavia, a digestibilidade da FDN e da FDA apresentaram aumentos
390 médios de 7,0 e 11,0%, respectivamente com a adição de enzima com levedura.

391 Em relação à digestibilidade do amido Carreón et al. (2010) verificaram efeito
392 positivo com a inclusão de enzimas fibrolíticas, indicando que as mesmas também
393 podem ser efetivas na digestibilidade de carboidratos não fibrosos como o amido.
394 Entretanto, em experimento realizado por Oliveira et al. (2015), observaram-se que a
395 porcentagem de amido residual fecal não foi influenciada pela adição de enzimas
396 amilolíticas exógenas, uma vez que não houve diferença estatística na porcentagem de
397 amido residual fecal e na digestibilidade *in vitro* da MS.

398 No Anexo 3 é apresentado o resumo da variância para os dados referentes ao
399 comportamento digestivo e ao comportamento ingestivo de novilhos confinados sob
400 efeito de diferentes doses de enzimas incluídas à dieta, conforme os períodos de
401 avaliação. Não houve interação significativa ($P>0,05$) entre dose de enzima e período de
402 avaliação para todos os parâmetros avaliados, relativo ao comportamento ingestivo dos
403 animais, representado pelas atividades de ócio (Oc), de ruminação (Ru), de consumo de
404 água (CAg) e de consumo de alimentos (CAI), estes expressos em horas dia⁻¹ ou sob
405 aspectos de escore de comedouro (EC) e de escores de fezes (EF) de novilhos
406 confinados, seja de forma individualizada ou associada sob efeito de dose de enzima
407 e/ou período de avaliação.

408 Na análise do comportamento ingestivo nos períodos de avaliação (Tabela 5),
409 observou-se diferença significativa ($P<0,05$) apenas para atividade de consumo de
410 alimentos, enquanto que para as atividades de consumo de água, ruminação e ócio não
411 houve diferença entre os períodos. O tempo dedicado ao consumo de alimentos foi
412 maior no primeiro período do confinamento (3,33 horas dia⁻¹) comparativamente ao
413 segundo (2,75 horas dia⁻¹) e terceiro (2,74 horas dia⁻¹), com valores similares entre si.

414

415 **Tabela 5.** Comportamento ingestivo (horas dia⁻¹) de novilhos alimentados com
416 diferentes níveis de enzima incluídos à dieta, conforme período de confinamento.

Dieta experimental	Período de Confinamento			Média
	1º Período	2º Período	3º Período	
	1-21 dias	22-42 dias	43-63 dias	
Comendo, horas dia ⁻¹				
Controle	3,71	2,74	2,81	3,09
2,5 g	3,28	2,74	3,06	3,03
5,0 g	3,08	2,45	2,35	2,63
7,5 g	3,27	3,09	2,76	3,04
Média	3,33 a	2,75 b	2,74 b	
Equação regressão*	CAI: 2,94 horas dia ⁻¹ (R ² : 0,0013; CV: 18,83%; P<0,4458)			
Bebendo, horas dia ⁻¹				
Controle	0,13	0,16	0,12	0,13
2,5 g	0,16	0,11	0,12	0,13
5,0 g	0,16	0,24	0,13	0,18
7,5 g	0,06	0,10	0,10	0,09
Média	0,13 a	0,15 a	0,12 a	
Equação regressão	CAG: 0,13 horas dia ⁻¹ (R ² : 0,011; CV: 77,19%; P<0,4720)			
Ruminando, horas dia ⁻¹				
Controle	4,95	5,63	5,50	5,36
2,5 g	5,98	5,14	5,54	5,55
5,0 g	4,91	6,06	4,76	5,24
7,5 g	6,01	5,79	5,59	5,80
Média	5,46 a	5,65 a	5,35 a	
Equação regressão	Ru: 5,49 horas dia ⁻¹ (R ² : 0,016; CV: 16,20%; P<0,3861)			
Ócio, horas dia ⁻¹				
Controle	15,29	15,52	15,61	15,48
2,5 g	14,76	16,03	15,08	15,29
5,0 g	15,88	15,29	17,06	16,08
7,5 g	14,66	15,15	15,60	15,14
Média	15,15 a	15,50 a	15,84 a	
Equação regressão	Oc: 15,50 horas dia ⁻¹ (R ² : 0,001; CV: 7,01%; P<0,8746)			

417 Médias, seguidas por letras minúsculas na linha, diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%.

418 * D: Dose de enzima variando de 0 a 7,5 g animal dia⁻¹.

419

420 Na média geral, com base nos dados apresentados na Tabela 5, não se observou
421 efeito (P>0,05) das doses de enzimas sobre o comportamento ingestivo dos animais,

422 representado pelas atividades de ócio, de ruminação, de consumo de água e de consumo
423 de alimento, estes expressos em horas dia⁻¹.

424 Corroborando com o presente trabalho, Bowman et al. (2003), não observaram
425 diferenças no tempo de ingestão alimentar, mastigação e ruminação de animais
426 alimentados com enzimas. Em contrapartida Beauchemin et al. (2000), em experimento
427 utilizando diferentes produtos enzimáticos, verificaram que o tempo despendido para
428 alimentação por unidade de FDN e de FDA decresceu com o uso das enzimas, fato
429 atribuído ao efeito pré-ingestivo da enzima no alimento.

430 Em experimento com dieta alto grão sem presença de volumoso, Neumann et al,
431 (2018), adicionando complexo enzimático à dieta alimentar de novilhos confinados,
432 observaram menores valores para o parâmetro de ruminação, comparado com o
433 tratamento controle, com valores médios de 0,94 horas dia⁻¹ e 1,14 horas dia⁻¹,
434 respectivamente. O autor justifica essa redução na ruminação à composição da dieta,
435 pois com a inclusão do complexo enzimático houve uma quebra menos intensa do
436 pericarpo do grão de milho, e isto garantiu uma passagem mais lenta com conseqüente
437 maior aproveitamento o grão como um todo. Juntamente com este maior tempo de
438 retenção no rume, o tratamento com enzima gerou um menor tempo despendido para a
439 ruminação.

440 O comportamento ingestivo representado sob aspectos de escore de comedouro
441 e escore de fezes de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzima inclusos à
442 dieta, conforme período de confinamento é apresentado na Tabela 6.

443

444 **Tabela 6.** Comportamento ingestivo quanto aspectos de escore de comedouro e escore
445 de fezes de novilhos alimentados com diferentes níveis de enzima inclusos à dieta,
446 conforme período de confinamento.

Dieta experimental	Período de Confinamento			Média
	1º Período 1-21 dias	2º Período 22-42 dias	3º Período 43-63 dias	
	Escore de comedouro diário			
Controle	2,94	2,82	2,94	2,90
2,5 g	3,01	3,00	2,96	2,99
5,0 g	2,96	2,86	2,88	2,90

7,5 g	2,38	2,58	3,02	2,66
Média	2,82 a	2,82 a	2,95 a	
Equação regressão	EC: 2,86 (R ² : 0,0714; CV: 15,82%; P<0,1887)			

	Escore de fezes diário			
Controle	3,49	3,18	3,36	3,34
2,5 g	3,39	3,20	3,29	3,29
5,0 g	3,46	3,20	3,20	3,29
7,5 g	3,54	3,15	3,43	3,37
Média	3,47 a	3,18 b	3,32 ab	
Equação regressão	EF: 3,32 (R ² : 0,0281; CV: 6,43%; P<0,5270)			

447 Médias, seguidas por letras minúsculas na linha, diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%.

448 * D: Dose de enzima variando de 0 a 7,5 g animal dia⁻¹.

449

450 Na média geral, com base nos dados apresentados na Tabela 6, não se observou
 451 efeitos isolados (P>0,05) das enzimas e/ou do período de avaliação do confinamento
 452 quanto aos aspectos de escore de comedouro e escore de fezes, apresentando escores
 453 médios de 2,86 e 3,32, respectivamente. Esses dados indicam que na dieta fornecida de
 454 50% silagem de milho e 50% concentrado, os animais não realizaram a seleção,
 455 ingerindo uniformemente o alimento. Em relação ao escore de fezes pode-se observar
 456 que a dieta não promoveu distúrbios intestinais que afetassem a consistência das
 457 mesmas.

458

459

CONCLUSÃO

460

461 Na análise conjunta dos diferentes parâmetros avaliados e das doses testadas no
 462 presente trabalho, a inclusão de 5 g animal dia⁻¹ do complexo enzimático (Potenzia®) à
 463 dieta alimentar de novilhos confinados promoveu melhorias na digestibilidade aparente
 464 da dieta e, melhor deposição de gordura nas carcaças. O desempenho animal e o
 465 comportamento ingestivo de novilhos em confinamento não foram alterados em função
 466 das diferentes doses de inclusão de enzimas à dieta alimentar.

467

468

469

470

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 471
472
473
474 AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official methods of
475 analysis. 16th ed. AOAC Internation, Washington, DC.
- 476 Beauchemin, R. A.; Rode, L. M.; Maekawa, M.; Morgavi, D. P.; Kampen, R. 2000.
477 Evoluotion of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. Journal
478 of Dairy Science 83:543-553. 10.3168/jds.S0022-0302(00)74914-9
- 479 Bowman, G. R.; Beauchemin, K. A. and Shelford, J. A. 2003. Fibrolytic enzymes and
480 parity effects on feeding behavior, salivation, and ruminal pH of lactating dairy
481 cows. Journal of Dairy Science 86:565-575. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73635-2)
482 0302(03)73635-2
- 483 Brito, F. O. 2010. Níveis de complexo enzimático em dietas para ruminantes.
484 Dissertação (M.Sc.). Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- 485 Carreón, L.; Pinos-Rodríguez, J. M.; Bárcena, R.; González, S. S.; Mendonza, G. 2010.
486 Influence of fibrolytic enzymes on ruminal disappearance and fermentation in steers
487 fed diets with short and long particle length of forage. Italian Journal of Animal
488 Science 9:83-87. <https://doi.org/10.4081/10.4081/ijas.2010.e17>
- 489 Fagundes, N. S.; Caires, C. M.; Fagundes, N. S.; Benedetti, E. 2008. Enzimas na
490 alimentação de ruminantes. Revista Eletrônica Nutritime 5:498-503.
- 491 Ferreira, S. F.; Guimarães, T. P.; Moreira, K. K. G.; Alves, V. A.; Lemos, B. J.M.;
492 SOUZA, F. M. 2013. Caracterização fecal de bovinos. Revista Científica Eletrônica
493 de Medicina Veterinária 20:1-22.
- 494 Goering, H. K. and Van Soest, P. J. 1970. Forage fiber analysis: apparatus reagents,
495 procedures and some applications. Agricultural handbook. Washington, DC, USA.

- 496 Hendrix, D. L. 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in
497 plant tissues. *Crop Science Journal* 33:1306-1311.
498 <https://doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300060037x>
- 499 Herring, W. O.; Miller, D. C.; Bertrand, J. K. and Benyshek, L. L. 1994. Evaluation of
500 machine, technician and interpreter effects on ultrasonic measures of backfat and
501 longissimus muscle area in beef cattle. *Journal of Animal Science* 73:2216-2226.
502 <https://doi.org/10.2527/1994.7292216x>
- 503 Kozloski, G. V. 2011. *Bioquímica dos ruminantes*. 3a ed. Editora UFSM: Santa Maria.
- 504 Looper, M. L.; Stokes, S. R.; Waldner, D. N.; Jordan, E. R. 2001. *Managing Milk*
505 *Composition: Evaluating Herd Potential*. Cooperative Extension Service College of
506 *Agriculture and Home Economics*. Guide D-104. New Mexico State University.
- 507 Martins, A. D. S.; Vierira, P. D. F.; Berchielli, T. T., Prado, I. N and Molettea, J.L.
508 2006. Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com
509 enzimas fibrolíticas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:2118-2124.
510 <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000700032>
- 511 Medeiros, R. S.; Gomes, R. C.; Bungenstab, D. J. 2015. *Nutrição de Bovinos de corte:*
512 *Fundamentos e Aplicações*. Brasília: Embrapa.
- 513 Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing
514 sugar. *Analytical Chemistry* 31:426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- 515 Morgavi, D. P.; Beauchemin, K. A.; Nsereko, V. L.; Rode, L. M.; Iwaasa, A. D.; Yang,
516 W. Z.; McAllister, T. A. and Wang, Y. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic
517 enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of Dairy Science*
518 83:1310-1321. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74997-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74997-6)
- 519 Müller, L. 1987. *Normas para avaliação de carcaças e concurso de carcaça de novilhos*.
520 2.ed. Imprensa Universitária, Santa Maria.

- 521 Neumann, M.; Leão, G. F. M.; Horst, E. H.; Stuani, O. F.; Sangali, C. P.; Castilho, R.
522 2018. Exogenous enzymes improve performance and carcass traits of feedlot cattle
523 fed high-grain diet. *Revista Brasileira de Zootecnia* 47:1-9.
524 <https://doi.org/10.1590/rbz4720170308>
- 525 Oliveira, C. B.; Caetano, G. A. O.; Caetano Júnior, M. B.; Martins, T. R.; Oliveira, C.
526 B. 2017. Mecanismos reguladores de consumo em bovinos de corte: fatores físicos,
527 fatores químicos, fatores psicogênicos, ingestão de água. *Revista Eletrônica*
528 *Nutritime* 14:6066-6075.
- 529 Oliveira, L. G.; Ferreira, R. N.; Padua, J. T.; Ulhoa, C. J.; Cysneiros, C. S. S. and
530 Arnhold, E. 2015. Performance of beef cattle bulls in feed lots and fed diets
531 containing enzymatic complex. *Acta Scientiarum Animal Sciences* 37:181-186.
532 <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v37i2.26446>
- 533 Person, A. M.; Duston, T. R. 1991. Growth regulation in farm animals: Advances in
534 meat research. Elsevier Science Publishing 7:1-16.
- 535 Queiroz, R. C.; Bergamaschine, A. F.; Bastos, J. F. P.; Dos Santos, P. C.; Lemos, G. C.
536 2004. Uso de produto à base de enzima e levedura na dieta de bovinos:
537 Digestibilidade dos nutrientes e desempenho em confinamento. *Revista Brasileira de*
538 *Zootecnia* 33:1548-1556. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982004000600022>
- 539 SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's Guide: statistics**, version.6, 4.ed. North
540 Caroline, 1993. v.2, 943p.
- 541 Tedesco, M. J.; Gianello, C.; Bissani, C. A.; Bohnen, H. and Volhweiss, S. J. 1995.
542 Análises de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Universidade Federal do Rio
543 Grande do Sul, Porto Alegre.
- 544 Tricarico, J. M.; Abney, M. D.; Galyean, M. L.; Rivera, J. D.; Hanson, K. C.; McLeod,
545 K. R. and Harmon, D. L. 2006. Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract

- 546 containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of
547 finishing beef cattle. *Journal of Animal Science* 85:802-811.
548 <https://doi.org/10.2527/jas.2006-427>
- 549 Tricarico, J. M.; Johnston, J. D.; Dawson, K. 2008. Dietary supplementation of
550 ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. *Animal Feed Science and*
551 *Technology* 145:136-150. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.017>
- 552 Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Symposium: Carbohydrate
553 methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for
554 dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to
555 animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74:3583-3597.
556 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- 557 Vigne, G. L. D.; Neumann, M.; Santos, L. C.; Dochwat, A.; Venancio, B. J.; Heker
558 Junior, J. C.; Ueno, R. K.; De Souza, A. M. 2018. Doses of enzyme complex in a
559 high-energy diet on performance and carcass traits of feedlot steers. *Revista*
560 *Brasileira de Zootecnia* 47:1-9. <https://doi.org/10.1590/rbz4720170317>
- 561 Wallace, R. J.; Wallace, S. J.; McKain, N.; Nsereko, V. L. and Hartnell, G. F. 2001.
562 Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass
563 silages by mixed ruminal microorganisms in vitro. *Journal of Animal Science*
564 79:1905-1916.
- 565 Weiss, W. P.; Conrad, H. R. and Pierre, N. R. S. 1992. A theoretically based model for
566 predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Journal of*
567 *Animal Feed Science and Technology* 39:95-110. [https://doi.org/10.1016/0377-](https://doi.org/10.1016/0377-8401(92)90034-4)
568 [8401\(92\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(92)90034-4)
- 569

ANEXO 1

570
571

572 **Anexo 1.** Resumo da análise de variância para ganho de peso médio diário (GMD),
573 ingestão de matéria seca expresso em kg animal dia⁻¹ (IMSD) e por 100 kg de peso vivo
574 (IMSP), conversão alimentar (CA) e eficiência alimentar (EA) de novilhos confinados
575 sob efeito de diferentes doses de enzimas inclusas à dieta, conforme os períodos de
576 avaliação.

577

Fonte de variação	Quadrado médio do erro					R ²	CV, %	Média	Probabilidade (P<0,05)			
	Dose (D)	Período (P)	Bloco (B)	D*P	Erro				D	P	B	D*P
GL*	3	3	3	9	45	-	-	-	-	-	-	-
GMD	0,0402	0,3857	0,0653	0,0316	0,0638	0,380	17,78	1,420	0,5990	0,0015	0,3907	0,8692
CMSD	1,3155	1,0213	0,7214	0,0939	0,4996	0,609	7,96	8,87	0,0510	0,1206	0,2418	0,9944
CMSP	0,1132	0,4599	0,0237	0,0127	0,0315	0,573	7,25	2,45	0,0207	0,0001	0,5270	0,9264
CA	0,8947	8,6939	1,2244	0,6118	0,8895	0,487	14,66	6,43	0,3990	0,0001	0,2621	0,7158
EA	0,0006	0,0070	0,0010	0,0003	0,0006	0,499	15,71	0,160	0,4619	0,0001	0,2080	0,8842

578 * GL: graus de liberdade.

579

580

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

ANEXO 2

592
593

594 **Anexo 2.** Resumo da análise de variância para valores finais (f) e de ganho (g) de área
595 de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), espessura de gordura
596 na picanha (EGP), marmoreio (M) e ratio (R) das carcaças de novilhos confinados sob
597 efeito de diferentes doses de enzimas inclusas à dieta.

598

Fonte de variação	Quadrado médio do erro			R ²	CV, %	Média	Probabilidade (P<0,05)	
	Dose (D)	Bloco (B)	Erro				D	B
GL*	3	3	15	-	-	-	-	-
AOLf	11,3418	69,2834	11,6150	0,698	4,23	80,63	0,4458	0,0160
EGSf	0,5302	3,7125	0,8009	0,638	15,11	5,92	0,5959	0,0318
EGPf	0,5524	6,3036	0,6871	0,768	11,15	7,43	0,5226	0,0042
Mf	0,0179	0,1347	0,0799	0,389	9,97	2,84	0,8778	0,2391
Rf	0,0003	0,0013	0,0004	0,584	4,16	0,473	0,5102	0,0660
AOLg	15,9810	15,3851	20,0968	0,342	15,87	28,23	0,5268	0,5415
EGSg	0,7405	1,4865	0,4188	0,639	20,55	3,15	0,0230	0,0609
EGPg	0,9063	3,4751	0,4637	0,759	17,24	3,95	0,0315	0,0081
Mg	0,0051	0,0428	0,0265	0,375	24,13	0,194	0,9000	0,2546
Rg	0,0006	0,0001	0,0003	0,448	22,32	0,0239	0,1925	0,6971

599 * GL: graus de liberdade.

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

610

611

612

ANEXO 3

613
614

615 **Anexo 3.** Resumo da análise de variância para comportamento ingestivo dos animais,
 616 representado pelas atividades de ócio (Oc), de ruminação (Ru), de consumo de água
 617 (CAg) e de consumo de alimentos (CAI), estes expressos em horas dia⁻¹ ou sob aspectos
 618 de escore de comedouro (EC) e de escores de fezes (EF) e para comportamento
 619 digestivo expresso pelos parâmetros produção média de fezes em kg dia⁻¹, base natural
 620 (PFMN) ou base seca (PFMS), teor de matéria seca do esterco (MSF), digestibilidade
 621 aparente da dieta (DMS), da fibra em detergente neutro (DFDN) e do amido (DA) de
 622 novilhos confinados sob efeito de diferentes doses de enzimas inclusas à dieta,
 623 conforme os períodos de avaliação.

624

Fonte de variação	Quadrado médio do erro					R ²	CV, %	Média	Probabilidade (P<0,05)			
	Dose (D)	Período (P)	Bloco (B)	D*P	Erro				D	P	B	D*P
GL*	3	2	3	6	33	-	-	-	-	-	-	-
PFMN	8,5290	19,9180	2,7937	1,2262	3,1412	0,439	10,95	16,17	0,0505	0,0047	0,4568	0,8799
PFMS	0,2617	0,5521	0,0336	0,0218	0,0751	0,461	9,96	2,75	0,0266	0,0023	0,7202	0,9368
MSF	0,6735	0,2029	0,7464	0,3242	0,6540	0,234	4,74	17,05	0,3921	0,7353	0,3469	0,8069
DMS	15,9924	115,826	11,829	1,1539	3,3352	0,745	2,63	69,41	0,0070	0,0001	0,0249	0,9071
DFDN	45,2480	330,1922	30,647	4,7309	12,0508	0,697	6,52	53,23	0,0200	0,0001	0,0730	0,8784
DA	1,7303	2,7870	1,4167	0,1535	0,5444	0,470	0,77	95,33	0,0368	0,0116	0,0685	0,9414
Oc	2,0217	1,8872	2,9190	1,3526	0,8358	0,492	5,90	15,50	0,0887	0,1205	0,0264	0,1732
Ru	0,7106	0,3888	2,4547	1,0065	0,6274	0,441	14,42	5,49	0,3501	0,5443	0,0170	0,1771
CAg	0,0151	0,0057	0,0041	0,0045	0,0121	0,194	82,30	0,13	0,3084	0,6305	0,7992	0,8906
CAI	0,5543	1,8238	0,0652	0,1764	0,2356	0,458	16,48	2,94	0,0911	0,0018	0,8419	0,6149
EC	0,2375	0,0929	0,1886	0,1252	0,2346	0,224	16,91	2,86	0,3998	0,6761	0,5008	0,7787
EF	0,0202	0,3239	0,0392	0,0173	0,0358	0,440	5,69	3,32	0,6413	0,0007	0,3654	0,8150

625 * GL: graus de liberdade.

626

627

628

629

630

631

ANEXO 4

632
633
634
635
636
637

Anexo 4. Comprovante de submissão do artigo denominado “**ANIMAL PERFORMANCE, APPARENT DIGESTIBILITY AND FEEDING BEHAVIOR OF FEEDLOT STEERS SUPPLEMENTED WITH DIFFERENT LEVELS OF ENZYME COMPLEX**”, na revista Brasileira de Zootecnia.

04/12/2018 ScholarOne Manuscripts

Revista Brasileira de Zootecnia

Home

Author

Review

Submission Confirmation [Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to
Revista Brasileira de Zootecnia

Manuscript ID
RBZ-2018-0307

Title
Animal performance, apparent digestibility and feeding behavior of feedlot steers supplemented with different levels of enzyme complex

Authors
Santos, Leslie
Neumann, Mikael
Vigne, Gabriela
Ruivo, William
Moresco, Eduardo
Zdepski, Bruna
Fávaro, Jorge
Stadler Junior, Edemir

Date Submitted
04-Dec-2018

Author Dashboard

638