

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MAÍRA COSTA NEIVA

AVALIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA NUTRIÇÃO DE OVINOS

UBERLÂNDIA- MG
DEZEMBRO/2018

MAÍRA COSTA NEIVA

AVALIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA NUTRIÇÃO DE OVINOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (Mestrado), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias

Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Gilberto de Lima Macedo Júnior

UBERLÂNDIA- MG

DEZEMBRO/2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

N417a Neiva, Maíra Costa, 1991
2018 Avaliação de enzimas exógenas na nutrição de ovinos [recurso eletrônico] / Maíra Costa Neiva. - 2018.

Orientador: Gilberto de Lima Macedo Júnior.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1232>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Veterinária. 2. Ovino - Nutrição. 3. Nutrição animal. 4. Amido. I. Macedo Júnior, Gilberto de Lima, 1977, (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619



ATA

Ata da defesa de Dissertação de **MESTRADO ACADÊMICO** junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de mestrado acadêmico nº **PPGCV/ 024/ 2018**

Data: 19/12/2018

Hora início: 14:00

Discente: **MAÍRA COSTA NEIVA** - Matrícula – 11612MEV025

Título da Dissertação: **AVALIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA NUTRIÇÃO DE OVINOS**

Área de concentração: **PRODUÇÃO ANIMAL**

Linha de pesquisa: **MANEJO E EFICIÊNCIA DE PRODUÇÃO DOS ANIMAIS, SEUS DERIVADOS E SUBPRODUTOS**

Projeto de Pesquisa de vinculação: **AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO REPRODUTIVO E PRODUTIVO DO SISTEMA DE PRODUÇÃO**

Reuni-se na sala 216, bloco 1C - Campus Glória da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Professores(as) Doutores(as): **JANINE FRANÇA** - UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA; **CAMILA RAINERI** - UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA e **GILBERTO DE LIMA MACEDO JUNIOR** orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da comissão **Dr./Dra. GILBERTO DE LIMA MACEDO JUNIOR** concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para uma exposição do seu trabalho, contando com o tempo máximo de 50 minutos. A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a), durante o prazo máximo de (30) minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para resposta. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Comissão Julgadora, em sessão secreta, considerou o(a) candidato(a):

(x) APROVADO

() REPROVADO

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou o (a) candidato (a) aprovado (a) sugerindo um novo título para o trabalho: _____

Esta defesa de Dissertação de Mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme Regulamento do Programa, Legislação e a Regulamentação Interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar o(a) Presidente encerrou os trabalhos às 17 horas e 25 minutos, lavrou esta ata que será assinada por todos os membros da Comissão Examinadora. Uberlândia, 19 de Dezembro de 2018.

PROF. DR. GILBERTO DE LIMA MACEDO JUNIOR

PROFA. DRA. JANINE FRANÇA

PROFA. DRA. CAMILA RAINERI





Documento assinado eletronicamente por **Janine França, Professor(a) do Magistério Superior**, em 07/03/2019, às 15:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Camila Raineri, Professor(a) do Magistério Superior**, em 07/03/2019, às 15:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1067773** e o código CRC **1AC067E6**.

RESUMO

O uso de enzimas exógenas é uma biotecnologia que visa otimizar a produção de ruminantes, estudada para implementar e melhorar a digestibilidade e a degradabilidade ruminal da fibra, amido e proteína presentes nos alimentos. Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito de enzimas exógenas fornecidas como aditivo na ração para borregas. O ensaio experimental foi conduzido no setor de ovinos e caprinos da Fazenda Capim Branco, de propriedade da Universidade Federal de Uberlândia, sediada no município de Uberlândia-MG. Foram utilizadas 5 borregas dorper/Santa Inês com idade média de sete meses e peso médio de 36,4kg, alojadas em gaiolas metabólicas, distribuídas em cinco tratamentos: FIBROZYME[®] (enzima fibrolíticas); AMAIZE[®] (enzima amilolítica); ALLZYME[®] (enzima proteolítica); MIX (complexo enzimático) e CONTROLE (dieta sem adição de enzimas). O período experimental foi dividido em 5 fases de 15 dias, os 10 primeiros dias foram utilizados para adaptação à dieta e os 5 últimos dias para a coleta de dados e amostras. Foram aferidos parâmetros de consumo, digestibilidade, comportamento ingestivo, ausculta ruminal, perfil metabólico, energético e hepático. Os animais foram distribuídos em delineamento quadrado latino 5x5. As médias dos tratamentos foram avaliadas pelo teste de SNK ao nível de significância de 5%. O consumo de matéria seca em relação ao peso corporal (CMS/PC), o consumo de proteína bruta (CPB) e o consumo de nitrogênio (CN) foram superiores para tratamento utilizando a enzima amilolítica, o balanço de nitrogênio (BN) foi superior para os tratamentos com as enzimas proteolíticas e amilolíticas. Com relação ao comportamento ingestivo observou-se maior tempo em mastigação total nos animais consumindo a dieta com as enzimas fibrolíticas e amilolíticas. Nenhum dos tratamentos provocou alterações na movimentação ruminal. Houve maior concentração das enzimas fofastase alcalina (FA) e gamaglutamil transferase (GGT) nos tratamentos utilizando as enzimas, indicando maior atividade hepática. Com relação aos metabólitos energéticos, houve menor concentração da lipoproteína de baixa densidade (LDL) para os animais consumindo dietas com adição das enzimas. O uso de enzimas exógenas provoca melhor aproveitamento dos nutrientes, com alta digestibilidade da matéria seca, fibra em detergente neutro e proteína bruta.

Palavras chave: amido, fibra, *Ovis aries*, proteína.

ABSTRACT

The use of exogenous enzymes is a biotechnology that aims to optimize the production of ruminants, studied to implement and improve the digestibility and rumen degradability of fiber, starch and protein present in food. The objective of this study was to evaluate the effect of exogenous enzymes supplied as feed additive to lambs. The experimental trial was conducted in the sheep and goats sector of Capim Branco Farm, owned by the Federal University of Uberlândia, located in the city of Uberlândia-MG. Five lambs dorper/Santa Inês with mean age of seven months and average weight of 36.4 kg, housed in metabolic cages, were distributed in five treatments: FIBROZYME® (fibrolytic enzyme); AMAIZE® (amylolytic enzyme); ALLZYME® (proteolytic enzyme); MIX (enzymatic complex) and CONTROL (diet without addition of enzymes). The experimental period was divided into 5 phases of 15 days, the first 10 days were used for the diet adaptation and the last 5 days to collect data on water consumption and food, leftovers, excretion of urine and feces and their characteristics and auscultation. On the last day of each phase, the ingestive behavior was evaluated for 24 hours, through visual monitoring every 5 minutes. The animals were distributed in a 5x5 Latin square design. The means of the treatments were evaluated by the SNK test at a significance level of 5%. The dry matter intake in relation to body weight (DMI / BW) and crude protein intake (CPI) and nitrogen intake (NI) were higher in the treatment using the amylolytic and fibrolytic enzymes, and the nitrogen balance (NB) was superior for proteolytic and amylolytic enzyme treatments. The apparent digestibility was high, but without statistical differences, as well as the digestibility of the neutral detergent fiber. Regarding the ingestive behavior, it was observed a longer time in total chewing in the animals consuming the diet with the fibrolytic and amylolytic enzymes. None of the treatments caused changes in ruminal movement. There was a higher concentration of the enzymes alkaline phosphatase (AP) and gammaglutamyl transferase (GGT) in the treatments using exogenous enzymes, indicating a higher hepatic activity. With regard to energetic metabolites, there was a lower concentration of low density lipoprotein (LDL) for the animals consuming diets with addition of the enzyme. The use of exogenous enzymes causes better utilization of nutrients, with high dry matter digestibility, neutral detergent fiber and crude protein.

Key words: fiber, *Ovis aries*, protein, starch.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2 - USO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA RAÇÃO PARA OVINOS

Tabela 1 – Composição das enzimas utilizados no experimento conforme o fabricante.....	30
Tabela 2 – Composição centesimal e bromatológica dos concentrados experimentais do sal mineral.....	30
Tabela 3 – Composição bromatológica das rações e da silagem.....	31
Tabela 4 – Consumo de matéria seca (CMS) consumo de matéria seca em função do peso corporal (CMS/PC), consumo de matéria seca em função do peso metabólico (CMS/PM), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de fibra em detergente neutro em função do peso corporal (CFDN/PC), consumo de fibra em detergente ácido (CFDA), consumo de hemicelulose (CHEMIC), consumo de proteína bruta (CPB) e consumo de nitrogênio (CN) de acordo com os diferentes tratamentos.....	36
Tabela 5 – Consumo de nitrogênio (CN), excreção de nitrogênio fecal (N. fecal), excreção de nitrogênio na urina (N. Urina), nitrogênio retido em função do nitrogênio ingerido (N.RET/N.ING), balanço de nitrogênio (BN) por borregas em função dos tratamentos	38
Tabela 6 – Digestibilidade da matéria seca (DMS), digestibilidade da fibra em detergente neutro (DFDN) e digestibilidade da proteína bruta (DPB) por borregas em função dos tratamentos.....	40
Tabela 7 – Consumo de água em função do consumo de matéria seca (CH ₂ O/CMS), consumo de água (CH ₂ O), peso das fezes na matéria natural (FMN), fezes na matéria seca (FMS), escore fecal (EF), volume de urina (VU) e densidade da urina (DSD) de acordo com os tratamentos.....	41
Tabela 8 – Movimentos ruminais (MR), tempo em ócio, tempo de ruminação, tempo de mastigação (Mast), eficiência de ruminação em função do consumo de matéria seca (Ef Rum MS), eficiência de ingestão em função do consumo de matéria seca (EF ING MS), - eficiência de mastigação em função do consumo de matéria seca (EF MAST MS) de acordo com diferentes tratamentos.....	43
Tabela 9 – Valores dos metabólitos proteicos de borregas em função das enzimas exógenas.....	44
Tabela 10- Perfil hepático e muscular de borregas em função do consumo de dietas com enzimas exógenas	47
Tabela 11– Metabólitos energéticos de borregas em função do consumo de dietas contendo enzimas exógenas.....	49

Sumário

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	8
1. Introdução	8
2. Objetivo	9
3. Hipótese	9
4. Revisão de Literatura	9
4.1. Enzimas	9
4.1.1. Enzimas amilolíticas	10
4.1.2. Enzimas fibrolíticas	12
4.1.3. Pectinases	14
4.1.4. Fitases	15
4.1.5. Enzimas proteolíticas	16
4.1.6. Efeito da enzima na nutrição de ruminantes	17
5. METABÓLITOS	18
Referências	20
CAPÍTULO 2 – USO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA RAÇÃO PARA OVINOS	26
Resumo	26
Abstract	27
1. Introdução	28
2. Material e Métodos	29
3. Resultados e Discussão	35
4. Conclusão.....	51
Referências.....	52

CAPITULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A alimentação é um dos fatores mais importantes dentro do sistema, pois é através dela que os animais ingerem os nutrientes necessários para expressarem seus potenciais produtivos. Ovinos são animais exigentes e devem ser alimentados com dieta de boa qualidade. Embora sistemas de criação baseados em pastagens sejam mais econômicos, sob pastejo, a produção desses animais é limitada pela produção forrageira e sua qualidade em função das estações (SANTOS et al., 2008), pois estes alimentos possuem baixa concentração em nutrientes e elevados teores de fibra, limitando com isso o consumo. Dessa forma, a inclusão de alimentos concentrados para atender as exigências nutricionais é fundamental. Além disso, deve-se buscar a utilização de tecnologias que permitam otimizar a exploração pecuária levando em consideração as relações desfavoráveis de custo de insumos.

O uso de enzimas exógenas é uma biotecnologia que vem sendo estudada para otimizar a digestibilidade a degradabilidade ruminal das fibras, amido e proteínas dos alimentos utilizados no sistema de produção de ruminantes. Com isso, o uso de enzimas, além de aumentar o desempenho, visa diminuir o custo de produção, com a menor utilização de matéria prima devido ao seu melhor aproveitamento (KRAUSE et al., 2003).

Na produção de aves e suínos, o uso de enzimas como aditivos para melhorar o aproveitamento dos alimentos é uma prática comum. Porém, inúmeros são os fatores que fazem com que o estudo em ovinos seja mais recente e desafiador, como as diferenças e dificuldades conhecidas do ambiente ruminal, características específicas dos produtos enzimáticos, a relação entre o uso das enzimas exógenas de forma exclusiva ou associadas à inoculantes bacterianos, escassez de informações e trabalhos na literatura, como também resultados diversos e por vezes divergentes.

Essa nova estratégia pode representar um grande avanço na nutrição de ruminantes e representa alternativa para incrementar a produtividade e reduzir os custos da alimentação, já que podem reduzir o uso de grãos, devido ao maior aporte energético proveniente dos substratos fibrosos. Morgavi et al. (2000), puderam verificar a estabilidade dessas enzimas no rúmen, as quais são oriundas da fermentação realizada por fungos ou bactérias proteolíticas e podem ter atividade amilolítica, fibrolítica ou proteolítica.

De acordo com Adesogan et al. (2014), as enzimas fibrolíticas são as mais exploradas cientificamente, uma vez que a degradação da fibra no ambiente ruminal é um dos fatores mais

limitantes na produção de ruminantes. Contudo, poucos trabalhos são encontrados na literatura referentes a utilização de enzimas na alimentação de ovinos. Assim, faz-se necessário estudo com tais aditivos, de forma a saber como interagem sobre o metabolismo e nutrição de ruminantes.

2. OBJETIVO

Objetivou-se com o presente estudo comparar a utilização de diferentes enzimas (amilolíticas, fibrolíticas, proteolíticas e mix contendo todas as enzimas) como aditivos na alimentação de borregas.

3. HIPÓTESE

O uso de enzimas exógenas promove melhora sobre os parâmetros nutricionais e metabólicos em borregas.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Enzimas

As enzimas são proteínas altamente específicas que agem como catalisadores biológicos de reações, ou seja, são estruturas capazes de acelerar uma reação química. Cada enzima atua em seu substrato específico, portanto sua nomenclatura está diretamente relacionada ao mesmo. Como exemplo, tem-se as proteases, que são enzimas capazes de catalisar a hidrólise das ligações peptídicas entre os aminoácidos de uma proteína. Esse processo é importante para que ocorra o aporte celular das importantes substâncias vitais, como aminoácidos, carboidratos, lipídeos, dentre outros. Para tanto, a digestão compreende a quebra de macromoléculas em micromoléculas mediada por enzimas endógenas, ou seja, produzidas pelo próprio organismo (VIEIRA, 2003).

A primeira evidência de que suplementação enzimática traz melhoria do ganho de peso no animal foi constatada em 1960, por Burroughs et al. Desde então, o mecanismo de ação das enzimas exógenas tem sido amplamente estudado na dieta (FENG et al., 1996). Utilizadas com maior frequência pela indústria as enzimas microbianas tem origem de quatro espécies de bactérias (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* e *Streptococcus faecium*,

spp.) e três espécies de fungos (*Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei* e *Saccharomyces cerevisiae*) (MUIRHEAD, 1996). A maior demanda de produção destas enzimas é do setor de nutrição animal se comparado aos demais setores da indústria (POLIZELI, 2008), como o setor alimentício, por exemplo.

Morgavi et al., (2000), constataram que a enzima liga-se ao seu substrato, quando adicionada ao alimento, formando o complexo enzima-substrato garantindo maior estabilidade enzimática. Essa formação garante maior permanência da enzima no ambiente ruminal, uma vez que a enzima não ligada ao seu substrato solubiliza-se no rúmen e vai diretamente para o intestino, não cumprindo assim o papel desejado. Nesse estudo também pôde-se verificar que, além de agir diretamente no alimento, as enzimas exógenas potencializam a atividade de enzimas endógenas existentes no rúmen, agindo de modo sinérgico, aumentando a hidrólise direta.

Essas enzimas são portanto capazes de facilitar a adesão de microrganismos nas células vegetais, aumentando assim a população microbiana ruminal devido ao aumento da disponibilidade de nutrientes. De acordo com Hristov et al. (1998), as enzimas não só elevam os níveis de bactérias que degradam fibra no rúmen, mas também aumentam a atividade fibrolítica no intestino delgado. Além disso, o uso de enzimas preconiza o melhoramento da digestão e da passagem do alimento, com a melhora da viscosidade do bolo alimentar na porção inicial do intestino, o que garante melhora na absorção do alimento fazendo com que haja melhor eficiência alimentar. Aumentos na taxa de passagem podem estar associados a uma rápida redução do tamanho de partícula no rúmen e/ou a um aumento decorrente do consumo de alimento (MERTENS et al., 1994).

4.1.1. Enzimas amilolíticas

As amilases são as enzimas responsáveis pela catalisação da hidrólise das ligações glicosídicas de polissacarídeos como o amido e o glicogênio, que são quebrados em subprodutos de pequenos polímeros de glicose (HARGER et al., 1982). Essa enzima classifica-se em três diferentes tipos, de acordo com as ligações em que promovem a hidrólise: α -amilases, β -amilases e glucoamilases. A primeira promove a hidrólise no interior do substrato, enquanto as outras causam a hidrólise na extremidade do substrato (MORAES, 2004).

As α -amilases promovem, portanto, a hidrólise das ligações α -1,4 de amidos que contem a partir de três unidades de D-glucose em sua cadeia, resultando em unidades de oligossacarídeos como maltotriose, maltose e glicose a partir da amilopectina e maltose da

amilose e dextrina-limite. Por sua vez, os produtos da hidrólise realizada pelas β -amilases e glucoamilases são: glicose, maltose e dextrina-limite (PANDEY et al., 2005). Acredita-se, portanto, que as α -amilases aumentem a quantidade de oligossacarídeos disponíveis no rúmen, facilitando a hidrólise do mesmo pelos microrganismos que ali se encontram o que aumenta a degradação do amido, alterando o processo de fermentação ruminal. Além disso, com o aumento da degradação e oferta de nutrientes promovidos pela presença das amilases, acarretando no aumento de açúcares, faz com que haja crescimento do número e desenvolvimento dos microrganismos, que aumenta ainda mais o poder de digestão do amido no ambiente ruminal (MORAES, 2004).

Rojo et al., (2005) suplementaram a dieta de cordeiros com amilase de origem exógena e avaliaram o aproveitamento do amido oriundo da alimentação com grãos de sorgo. Nesse estudo, foi observada melhora de 13,9% do ganho de peso dos animais suplementados em relação aos animais submetidos às mesmas condições, porém não suplementados com a amilase.

Comumente encontrado em tubérculos e semente de cereais, como milho, trigo e arroz, o amido é considerado o polissacarídeo de maior importância na reserva energética das plantas (MORAES, 2004). É um polímero composto por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas, que classifica-se em dois tipos: amilose e amilopectina. A amilose é um polímero disposto linearmente com ligações glicosídicas α -1,4 e a amilopectina com ligações lineares α -1,4 e laterais α -1,6 (NELSON e COX, 2002). A variação na estrutura entre linear e ramificada torna a amilopectina mais digestível pela maior facilidade de acesso microbiano e ação enzimática.

Na dieta de ruminantes, geralmente, o milho representa a principal fonte de energia, cerca de 70% do grão do milho é constituído por amido, sendo este composto por dois polissacarídeos, amilose e amilopectina, em proporções médias de 27% e de 73%, respectivamente (VIEIRA NETO, 2006). Naturalmente, o amido é fermentado pela amilase produzida pelos microrganismos presentes no rúmen, mas não todo, pode restar até 30% desse nutriente, o qual pode sofrer digestão na primeira porção do intestino ou fermentada na porção final (FOLEY et al., 2006).

O amido, no entanto, quando fermentado no ambiente ruminal tem maior eficiência (HUNTINGTON, 1997). Com isso, o aumento da capacidade fermentativa do rúmen com o aumento da degradação do amido no ambiente ruminal tem se mostrado vantajoso, aumentando produção de ácidos graxos voláteis, como o ácido propiônico, o principal precursor do glicogênio, devido elevação da síntese da proteína microbiana (ROONEY; PFLUGFELDER,

1986). Dessa forma, a suplementação enzimática com enzimas amilolíticas na dieta de ruminantes pode aumentar a digestibilidade do amido e de outros polissacarídeos, maximizando o aproveitamento dos mesmos, aumentando a produção animal (DILorenzo et al., 2011). Foi observado também, que algumas enzimas podem ser mais resistentes que outras, sendo capazes de transpor o ambiente ruminal e permanecerem ativas no abomaso e intestino, agindo de forma sinérgica ao organismo e auxiliando a digestão de materiais que escapam da fermentação ruminal (HRISTOV et al., 2008).

4.1.2. Enzimas fibrolíticas

Ações do setor produtivo agrícola ao longo dos anos desenvolveram melhorias nas plantas forrageiras, de modo a melhorar a digestibilidade da fibra fornecida na dieta dos animais. Entretanto, a digestibilidade do material fibroso ainda é um fator limitante no consumo de energia disponível nas forrageiras pelos ruminantes o que ainda gera excreção de grande quantidade de nutrientes por estes (BEAUCHEMIN et al., 2003). O uso das enzimas fibrolíticas tem por intuito disponibilizar carboidratos solúveis provenientes da hidrólise da parede celular, dessa maneira, o uso de enzimas exógenas com potencial fibrolítico tem por objetivo aumentar a digestibilidade da fração fibrosa melhorando sua utilização e a eficiência na produção de ruminantes (BEAUCHEMIN et al., 1995).

Os aditivos enzimáticos são comumente classificados com base nos compostos que degradam, como as celulases, xilanases e ligninases, que atuam sobre celulose, xilana e lignina, respectivamente. Geralmente, os compostos enzimáticos destinados à produção animal, são formados por diferentes combinações enzimáticas e, até mesmo produtos que contém somente celulases e hemicelulases, por exemplo, podem apresentar atividades secundárias associadas como amilases, pectinases e proteases, e se associar às celulases e hemicelulases, consideradas fundamentais às dietas de ruminantes (MCALLISTER et al., 2001)

O componente orgânico mais abundante na natureza é a celulose e a fonte primária desse polímero é a parede celular vegetal (LYND et al., 2002). As celuloses são polímeros de glicose com ligações β -1,4 e está ligado a diversos polissacarídeos (BISARIA E GHOSE, 1981). Sua estrutura apresenta formato cristalino com ligações de hidrogênio e áreas amorfas com organização randomizada (FAN et al., 1987). Contem microfibrilas que são empacotadas de forma a evitar a ação de agentes externos, como as enzimas, permitindo a penetração apenas de moléculas de água (HENDRIKS E ZEEMAN, 2009). As regiões amorfas são irregulares,

apresentando alterações como depressões, rachaduras, as quais facilitam ação das enzimas (BLOUIN et al., 1970).

A hemicelulose é composta por diversos polissacarídeos, como a xilana, manana arabinana e galactana, possui menor massa molecular que a celulose (DILLON, 2004). Tem estruturas lineares com ramificações e classificam-se de acordo com a presença do principal carboidrato constituinte, são eles: D-xilose, D-manose, D-ramnose, D-galactose, D-glicose. Além disso, as hemiceluloses podem possuir ramificações de ácido D-glucurônico, O-acetil, ácido felúrico, ácido D-galacturônico, L-ramnose, L-arabinose e ácido coumárico (HISAMATSU et al., 1992).

O principal componente da hemicelulose é a xilana, localizada entre o conjunto de fibras de celulose e a lignina. Possui cadeia linear com β -xilopirranose com ligações do tipo β -1,4. Esses polímeros produzem uma capa ao redor da celulose, interpondo-se com ligações de hidrogênio enquanto fazem ligação covalente com a lignina, o que garante a integridade da celulose, dificultando a ação da celulase (BEG et al., 2001).

A lignina é considerada componente dificultador da digestibilidade da planta, por tratar-se de polímeros condensados. São constituídas por diferentes álcoois fenilpropanoides provenientes de compostos como p-coumárico, sinapílico, ácido felúrico e coniferílico (FERREIRA-FILHO, 1994). As gramíneas, base da alimentação dos ruminantes, apesar de conterem menor quantidade de lignina se comparado com leguminosas, apresentam menor digestibilidade. Isso se deve ao fato da maior quantidade de hemicelulose, pois liga-se covalentemente com a lignina (fração não degradável no trato digestivo animal), prejudicando a digestibilidade (VAN SOEST, 1994).

As celulosas e hemicelulosas sofrem hidrólise no ambiente ruminal devido a enzimas produzidas por fungos, bactérias e protozoários. Porém, os substratos são degradados de maneira lenta, o que dificulta o aproveitamento do alimento, diminuindo a disponibilidade de proteínas e energia para os ruminantes. Dessa forma, a suplementação de enzimas fibrolíticas tem por finalidade iniciar o processo de degradação dos polissacarídeos presentes na parede celular das plantas antes mesmo da ingestão e digestão no rúmen, além de complementar a atividade das enzimas produzidas no próprio rúmen (COLOMBATTO et al., 2004).

Dentre as enzimas fibrolíticas estão: as celulasas, xilanasas e ligninas, as quais apresentam diferentes características físico-químicas. Essas enzimas degradam, respectivamente a celulose, a xilana e lignina. A atividade das enzimas fibrolíticas podem associar-se as de enzimas como amilases, proteases e pectinases, facilitando a ação das mesmas. Além disso, mesmo que no rúmen seja produzida grande quantidade de enzimas fibrolíticas, a

atividade dessas enzimas adicionadas à dieta podem expor sítios das parede celular para que as bactérias sejam aderidas com mais facilidade, permitindo uma digestão mais completa da dieta fornecida (MCALLISTER et al., 2001).

O uso das enzimas fibrolíticas melhoram a eficiência produtiva dos ruminantes e a utilização da forragem. Essa melhora de produção deve-se a melhoria na digestibilidade das fibras no ambiente ruminal, o que gera um aumento na ingestão de energia digestível (BEAUCHEMIN et al., 2003). Com isso, conclui-se que a adição das enzimas fibrolíticas na alimentação de ruminantes, por obter efeito direto na fibra, promove o aumento da digestão ruminal e pós-ruminal, ocorrendo o sinergismo entre as enzimas produzidas no mesmo (MCALLISTER et al., 2001).

4.1.3. Pectinases

A parede celular é rígida devido sua finalidade de proteção celular da célula vegetal. Essa parede é constituída por polímeros de hemicelulose, celulose e pectina, além de proteínas (ALBERTS et al., 1997). A pectina é um polissacarídeo com diferentes açúcares em sua composição, com características coloidais e solúveis em água. Açúcares como arabinose, xilose e galactose formam cadeias laterais com a pectina. Além disso, a pectina confere estrutura, resistência e firmeza ao tecido celular, além de dar texturas as frutas e vegetais (KASHYAP et al., 2001).

As pectinases são enzimas, produzida por uma vasta quantidade de microrganismos, como bactérias, fungos filamentosos, leveduras, insetos, nematoides e protozoários, as quais promovem a quebra dos diversos tipos de pectinas presentes nas plantas. Essas pectinases dividem-se em: pectinesterase, poligalacturonase, pectinaliase, e pectatoliase (MARTOS et al., 2013). As poligalacturonases, pectinaliase e pectatoliase são enzimas despolimerizantes pois são responsáveis por clivar os polímeros entre os monômeros de ácido galacturônico, tanto por hidrólise como por eliminação, promovendo a diminuição da viscosidade dos líquidos, o que contribui para aumentar a digestão e absorção de nutrientes (BEDFORD et al., 1991). A pectinesterase promove a catalise da desesterificação do metoxil da pectina, sem muito efeito na viscosidade, dando origem ao etanol e ácido pético (MARTOS et al., 2013). Além disso, dividem-se em exoenzimas e endoenzimas, as primeiras liberam dímeros e monômeros das extremidades das cadeias, por sua vez as endoenzimas clivam as pectinas com a liberação de oligômeros (FOGARTY e KELLY, 1983).

Os compostos enzimáticos adicionados à ração não possuem função nutricional direta, contudo, são capazes de influenciar beneficemente na digestibilidade. As carboidrases possuem como principais funções: a redução da viscosidade da digesta, o aumento da digestibilidade dos nutrientes da dieta e melhora da energia metabolizável (FISHER et al., 2002).

4.1.4. Fitases

Os alimentos que compõem a dieta dos ruminantes, como cereais, forragens, gramíneas e leguminosas contêm variados níveis de fósforo, o que depende da fertilidade do solo, bem como a fração da planta fornecida, o metabolismo da planta e as condições climáticas às quais o alimento foi submetido. Em suas formas orgânicas, o fósforo pode ser encontrado na forma de fitato ou inositol hexaquifosfato (também conhecido por ID6). A forma livre do inositol hexaquifosfato é o ácido fítico, que em sua forma aniônica é conhecido por fitato (HARLAND e MORRIS, 1995). Além disso, tem-se a fitina, que são os IP6 ligados a Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} e Fe^{2+} , proteínas ou amido (SELLE e RAVINDRAN, 2007). Estudo realizado por Harland e Morris, (1995), descreveu-se que com a adição de fitato na dieta, tem-se a inibição da atividade da amilase. Por sua vez, YOON et al., (1983), constataram que o ácido fítico também pode influenciar na atividade do amido.

Quando as proteínas e aminoácidos complexam-se com o fosfato (formando a fitina), tornam-se mais resistentes a enzimas proteolíticas no intestino, com isso há a diminuição da utilização da proteína proveniente da dieta. Portanto, a ação da fitase além de aumentar a quantidade de fósforo fítico, otimiza a utilização da proteína (SANDS et al., 2009). A fitase é uma enzima produzida apenas por microrganismos ou plantas, não sendo, portanto, produzidas por animais. Dessa forma, animais monogástricos não possuem essa enzima naturalmente, diferentemente dos ruminantes, em que a mesma é produzida por microrganismos presentes no rúmen. Portanto, em ruminantes as exigências e práticas de utilização de fitases são menores, em virtude dos microrganismos ruminais sintetizarem essa enzima.

A ação da fitase pode ser influenciada pelo tratamento dado ao alimento, bem como pela presença de cátions, quantidade de ácido fítico no meio e o pH (DIAS et al., 2006). Também conhecida como inositol hexaquifosfato fosfohidrolase, é responsável pela hidrólise do fitato a inositol e fosfato inorgânico. São classificadas em duas categorias: a 3- fitase e a 6-fitase, dependendo do local da hidrólise. A 3-fitase é produzida por microrganismos, enquanto a 6-fitase pelas plantas, a primeira não hidrolisa o fosfato em monoéster, por sua vez a 6-fitase é responsável pela desfosforilação do ácido fítico (KAUR et al., 2007).

Bravo et al. (2003), ao avaliarem a suplementação de ruminantes com fitase, não obtiveram efeito quando o concentrado foi suplementado com fitase fúngica. Divergindo de tal resultado, no mesmo estudo observaram que a concentração de 2000 FTU de fitase fúngica/kg em dietas para cabras, melhorou a solubilização ruminal do farelo de soja e do farelo de canola tratados com formaldeído. Bravo et al. (2003), na mesma linha de pesquisa, descrevem aumentos na disponibilidade do fósforo do farelo de soja e de girassol na ração fornecida à ovinos.

Portanto, a importância da hidrólise do fitato devido a retirada dos fosfatos do inositol, fazendo com que os fosfatos diminuam a capacidade de ligação com outros metais. Dessa forma, as estratégias em suplementação de fitase na dieta de ruminantes visam um melhor aproveitamento do fósforo orgânico, fazendo com que seja disponibilizado e reduzindo o custo com suplementos com fontes inorgânicas de fósforo (NAKASHIMA et al., 2007).

4.1.5. Enzimas proteolíticas

Dentre outras maneiras de classificação, a natureza química da porção catalítica das cadeias químicas das proteases podem classifica-las de acordo com o tipo de reação a ser catalisada, sendo exopeptidases e endopeptidases, as quais atuam na quebra das ligações peptídicas próximas e distantes dos grupos amino ou carboxílicos terminais da proteína respectivamente (RAO et al., 1998).

As proteases são enzimas que promovem a hidrólise das ligações peptídicas dos aminoácidos. O fluxo para o intestino da proteína de origem microbiana é influenciado pela taxa de degradação dos carboidratos e proteínas, por isso a importância da sincronização do fornecimento de dietas com taxas de degradação equivalentes promove o aumento da síntese de proteína microbiana e proteína metabolizável no rúmen. Portanto, as enzimas devem ser capazes de digerir a matriz proteica expondo os nutrientes para permitir a digestão microbiana.

Diversos fatores influenciam na degradação de proteína no rúmen, como a proporção volumoso/concentrado, granulometria do alimento fornecido, quantidade de alimento ingerido, fonte proteica fornecida e tempo de retenção desse alimento no rúmen (ALDRICH et al., 1996). Por exemplo, as enzimas proteolíticas são associadas à melhor digestibilidade do amido (DEPETERS et al., 2007; YOUNG et al., 2012), visto que agem sobre a matriz proteica que envolve os grânulos de amido, hidrolisando as complexas cadeias de polipeptídeos e liberando compostos de menor peso molecular, o que resulta em mais sítios de ação para atuação dos microrganismos do rúmen (SIMPSON, 2001). Desta maneira, o impedimento físico-químico

na digestão do amido em ruminantes promovido pela matriz proteica (OWENS et al., 1986) pode ser atenuado.

4.1.6. Efeito das enzimas na nutrição de ruminantes

O estudo da suplementação enzimática exógena na produção animal, tanto em monogástricos quanto em ruminantes, vem sendo realizado no intuito de gerar sinergismo entre a ação de enzimas endógenas e exógenas para melhorar a digestibilidade e conseqüentemente o aproveitamento dos alimentos, com incremento do valor nutritivo da dieta, principalmente de silagens e cereais (YOUNG et al., 2012), ingredientes mais utilizados na alimentação de ruminantes. As enzimas fibrolíticas são as mais pesquisadas até o momento pela comunidade científica, entretanto, enzimas amilolíticas e proteolíticas têm sido estudadas com finalidade de otimizar a degradabilidade do amido no ambiente ruminal, visto que atuam, respectivamente, quebrando a estrutura do amido em partículas menores e reduzindo a proteção da matriz proteica presente nos grânulos de amido (ROJO et al., 2005; VAN SOEST et al., 1991).

Adicionalmente, complexos enzimáticos (enzimas amilolíticas, fibrolíticas e proteolíticas) têm sido utilizados de forma simultânea com inoculantes bacterianos nos processos de ensilagem, os quais são conhecidos como inoculantes bacteriano-enzimáticos. A utilização dos inoculantes que possuem complexos-enzimáticos varia entre 2,5 a 62,5% dependendo da cultura a ser ensilada (REIS et al., 2015). O potencial de ação destes inoculantes dependem de alguns fatores a serem levados em consideração, como a forragem ensilada, taxa de aplicação e tempo de ensilagem, bem como observado no uso exclusivo de enzimas exógenas. Mesmo assim, alguns resultados apontam que não há melhora no valor nutritivo destas silagens (REIS et al., 2015),

Constituída, principalmente por celulose e hemicelulose, a forragem é a maior fonte de energia para os ruminantes (VAN SOEST, 1994). Esses compostos são formados por moléculas que se interligam via ligações rígidas e bastante resistentes, sendo este o fator que compromete a degradação do alimento pelos microrganismos ruminais, reduzindo o desempenho animal e a liberação de energia e proteína para os ruminantes (CHURCH et al., 1993).

Devido à variedade de produtos enzimáticos e diversidades nas condições experimentais, os resultados observados com a utilização de enzimas para ruminantes muitas vezes são inconsistentes, e variam desde uma maior liberação de carboidratos solúveis e melhora na digestibilidade do alimento, até respostas nulas ou negativas. Tais respostas podem ser atribuídas às condições nas quais a energia não é um fator limitante, pela diferença das ações

enzimáticas e características inerentes às enzimas suplementadas, bem como, por sub ou superdosagem da atividade enzimática e pelo método inapropriado do seu fornecimento ao animal (BEAUCHEMIN et al., 2003).

5. METABÓLITOS

Em rebanhos de alta produtividade faz-se necessário obter um balanço nutricional correto, principalmente em fases de maior exigência de produção, visto que durante esses períodos os animais carecem de maior mobilização de energia para preencher as altas demandas metabólicas exigidas pelos altos níveis de produção alcançados (CONTRERAS, WITTEWER E BÖHMWALD, 2000). A fim de evitar distúrbios metabólicos e também a caráter de monitoramento durante ciclos de produção e adaptação, o perfil metabólico e as diversas gamas das análises hemato-bioquímicas que o compõem têm sido estudadas, tornando constante a procura de indicadores da bioquímica sanguínea que avaliem o estado nutricional. Segundo Campos et al. (2007) os metabólitos mais úteis para avaliações metabólicas seriam aqueles que apresentam maiores intervalos de valores, já que a dispersão do valor fisiológico poderia dever-se a alterações nutricionais ou homeostáticas.

Perfil metabólico é um termo empregado por Payne et al. (1970), referindo-se a análise de componentes hemato-bioquímicos específicos que têm por finalidade avaliar, diagnosticar e prevenir transtornos metabólicos também pode ser utilizado como indicador do balanço nutricional do rebanho. Em animais de produção, o perfil metabólico tem sido muito empregado e atua como método auxiliar na avaliação de rebanhos com diferentes índices produtivos e reprodutivos (WITTEWER, 2000).

Segundo Russel (1991), o método mais rápido para avaliar o equilíbrio nutricional de ovinos é a determinação de alguns metabólitos circulantes. Os constituintes do plasma sanguíneo têm relação direta com a composição química e a digestibilidade dos componentes da dieta (CALDEIRA, 2005).

Pode-se utilizar ainda o comportamento ingestivo, que caracteriza-se por uma sequência de ações sucessivas e desuniformes de atividades (ingestão, ócio e ruminação) (FISCHER et al., 2000). Associado à esses parâmetros comportamentais, geralmente, é observado o parâmetro fisiológico de motilidade ruminal (FIGUEIREDO et al., 2013).

Quando observados em conjunto de maneira correta, todos esses parâmetros podem revelar o desempenho animal obtido frente à implantação de uma nova dieta e/ou biotecnologia empregada. Portanto, a avaliação dos parâmetros metabólicos neste estudo, analisou as borregas

que receberam um dieta rica em concentrado com suplementação de enzimas exógenas, de forma a representar possíveis melhoras na produtividade e também monitorar a homeostase fisiológica e o equilíbrio nutricional.

REFERÊNCIAS

ADESOGAN, A. T.; MA, Z. X.; ROMERO, J. J.; ARRIOLA, K. G. Ruminant Nutrition Symposium: Improving cell wall digestion and animal performance with fibrolytic enzymes. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 4, p. 1317–1330, 2014.

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. Porto Alegre: Artes Médicas: 1997.

ALDRICH, J. et al. **Rumen availabilities of nonstructural carbohydrate and protein estimated from in situ incubation of ingredients versus diets**. 1996. 257-271.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, p. 641-644, 1995
<https://doi.org/10.4141/cjas95-096>

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; KARREN, D.; CANADA, A.; BOX, P. O. **Use of feed enzymes in feedlot finishing diets**. n. October. 1996, 1999.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of animal science**, v. 81, n. 2, p. 37-47, 2003.

BEDFORD, M. R.; CLASSEN, H. L.; CAMPBELL, G. L. The effect of pelleting, salt and pentosanase on the viscosity of intestinal contents and the performance of broilers fed rye. **Poultry Science**, v. 70, n. 7, p. 1571-7, 1991. <https://doi.org/10.3382/ps.0701571>
PMid:1886869

BEG, Q. K. et al. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 56, n. 3-4, p. 326-38, Aug 2001. ISSN 0175-7598 (Print) 0175-7598.

BISARIA, V. S.; GHOSE, T. K. Biodegradation of cellulosic materials: Substrates, microorganisms, enzymes and products. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 3, n. 2, p. 90-104, 1981/04/01/ 1981. ISSN 0141-0229. Disponível em:
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0141022981900661> >.

BLOUIN, F. A.; F. MARTIN, L.; P. ROWLAND, S. **Gel-Permeation Properties of Cellulose: Part III: Measurement of Pore Structure of Unmodified and of Mercerized Cottons in Fibrous Form**. 1970. 809-813.

BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C.; MESCHY, F. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminant. **Reproduction Nutrition Development**, v. 43, p. 241-284, 2003.

BURROUGHS, W.; WOODS, W.; EWING, S. A.; GREIG, J.; THEURER, B. (1960). Enzyme additions to fattening cattle rations. **Journal of Animal Science** 19, 458-464.
<https://doi.org/10.2527/jas1960.192458x>

- CALDEIRA, R. M. Monitoração da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.100 n. 555-556, p.125-139, 2005.
- CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 241-249. 2007.
- COLOMBATTO, D. et al. In vitro evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage: I. Effects of ensiling temperature, enzyme source and addition level. **Animal Feed Science and Technology**, v. 111, n. 1, p. 111-128, 2004/01/12/ 2004. ISSN 0377-8401. Disponível em:
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840103002578> >.
- Contreras, P. A.; Wittwer, F.; Böhmwald, H. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional de ovinos. In: In: GONZÁLEZ, H.D.; BARCELLOS, J.; PATINÕ, H.O.; RIBEIRO, L. A. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p. 75-84.
- CHURCH, D. F. (Ed.) *The Ruminant Animal: Digestive physiology and nutrition*. Hardcover: Waveland Pr, 1993. 564p.
- DePETERS, E. J.; GETACHEW, G.; FADEL, J. G. et al. Influence of corn hybrid, protease and methods of processing on in vitro gas production. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, n.1- 2, p.157-175, 2007.
- DIAS, R. S. et al. A revised model for studying phosphorus and calcium kinetics in growing sheep. **J Anim Sci**, v. 84, n. 10, p. 2787-94, Oct 2006. ISSN 0021-8812.
- DILLON, A. Enzimas como agentes biotecnológicos. In: (Ed.). Ribeirão Preto: Legis Summa: SAID, 2004. p.243-270.
- DILORENZO, N. et al. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. **Livestock Science**, v. 137, n. 1, p. 178-184, 2011/05/01/ 2011. ISSN 1871-1413. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141310005664> >.
- FAN, L. T.; GHARPURAY, M. M.; LEE, Y. H. **Cellulose hydrolysis**. New York: 1987.
<https://doi.org/10.1007/978-3-642-72575-3>
- FENG, P. et al. Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. **J. Anim. Sci**, v. 74, n. 6, p. 1349-57, Jun 1996. ISSN 0021-8812 (Print) 0021-8812.
- FERREIRA-FILHO, E. X. The xylan-degrading enzyme system. **Braz. J. Med. Biol. Res**, v. 27, n. 5, p. 1093-109, May 1994. ISSN 0100-879X (Print) 0100-879x.

FISHER, G.; MAIER, J. C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.1, p. 402-410, 2002.

FOGARTY, W. M.; KELLY, C. T. **Pectic enzymes**. Microbial enzymes in biotechnology, 1983.

FOLEY, A. E. et al. Effect of barley and its amylopectin content on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 89, n. 11, p. 4321-35, Nov 2006. ISSN 0022-0302.

HARGER, C.; SPRADA, D.; HIRATSUKA, E. **Amilase Fungica**. Bioquímica das Fermentações: 1982.

HARLAND, B. F.; MORRIS, E. R. Phytate: A good or a bad food component? **Nutrition Research**, v. 15, n. 5, p. 733-754, 1995/05/01/ 1995. ISSN 0271-5317. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/027153179500040P> >.

HENDRIKS, A. T.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresour Technol**, v. 100, n. 1, p. 10-8, Jan 2009. ISSN 0960-8524.

HISAMATSU, M. et al. Characterization of seven xyloglucan oligosaccharides containing from seventeen to twenty glycosyl residues. **Carbohydr Res**, v. 227, p. 45-71, Apr 6 1992. ISSN 0008-6215 (Print) 0008-6215.

HRISTOV, A. N.; MCALLISTER, T. A.; CHENG, K-j. Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzymes in the rumen. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 76, n. 1-2, p.161-168, dez. 1998. Elsevier BV.

HRISTOV, A. N.; BASEL, C. E.; MELGAR, A.; FOLEY, E.; ROPP, . K; HUNT. W.; TRICARICO, J. M. Effect of exogenous polysaccharide-degrading enzymes preparations on ruminal fermentation and digestibility of nutrients in dairy cows. **Animal Feed Science And Technology**, v. 145, p182 -193, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.051>

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **J Anim Sci**, v. 75, n. 3, p. 852-67, Mar 1997. ISSN 0021-8812 (Print) 0021-8812.

KASHYAP, D. R. et al. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresour Technol**, v. 77, n. 3, p. 215-27, May 2001. ISSN 0960-8524 (Print) 0960-8524.

KAUR, P.; KUNZE, G.; SATYANARAYANA, T. Yeast **Phytases: Present Scenario and Future Perspectives**. 2007. 93-109.

- KRAUSE, D. O. et al. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. **FEMS Microbiol Rev**, v. 27, n. 5, p. 663-93, Dec 2003. ISSN 0168-6445 (Print) 0168-6445.
- LYND, L. R. et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 66, n. 3, p. 506-77, table of contents, Sep 2002. ISSN 1092-2172 (Print) 1092-2172.
- MARTOS, M. et al. Production of Pectinolytic Enzymes by the Yeast *Wickerhamomyces anomalus* Isolated from Citrus Fruits Peels. 2013. 435154.
- McALLISTER, T. A. et al. Enzymes in ruminant diets. In: (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxon: Cab International: Bedford, M.R.; Partridge, G.G., 2001. p.273-297.
- MORAES, M. L. P. Amilases. In: SAID (Ed.). **Enzimas como agente biotecnológicos**, 2004. cap. 13, p.222-242.
- MORGAVI, D. P. et al. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **J Dairy Sci**, v. 83, n. 6, p. 1310-21, Jun 2000. ISSN 0022-0302 (Print) 0022-0302.
- MUIRHEAD, S. (Ed.) Direct-Fed Microbial, Enzyme, and Forage Additive Compendium. 3rd ed. Minnetonka, Minnesota, USA: The Miller Publishing Company, 1996. 391p.
- NAKASHIMA, B. A. et al. Diversity of phytases in the rumen. **Microb Ecol**, v. 53, n. 1, p. 82-8, Jan 2007. ISSN 0095-3628 (Print) 0095-3628.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 3. Worth Publishers, 2002.
- OWENS, F. N.; ZINN, R. A.; KIM, Y. K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1634-1648, 1986.
<https://doi.org/10.2527/jas1986.6351634x> PMID:3539905
- PANDEY, A. et al. **Enzyme technology**. 1. New Delhi: Asiatech Publishers, 2005.
- PAYNE, J. M; DEW, S. M; MANSTON, R; FAULKS, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. **The Veterinary Record**. v. 87, p. 150-158, 1970.
<https://doi.org/10.1136/vr.87.6.150>
PMid:5528560
- POLIZELI, M. L. T. M. Properties and commercial applications of xylanases from fungi. In: RAI, M. K. (Ed.) **Mycotechnology: Current Trends and Future Prospects**. New Delhi: I.K. International Publisher, 2008. p.82-108.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE M. S. et al. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, n.3, p.597-635, 1998. PMID:9729602 PMCID:PMC98927

REIS, R. A.; JOBIM, C. C.; RABELO, C. H. S. et al. An overview about the role of silage inoculants in Brazil: a good strategy to improve the silage quality. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 52., 2015, Belo Horizonte. **Anais...** Brasília: SBZ, 2015. p.1-43.

ROJO, R. et al. Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, p. 655-665, 2005/12/07/ 2005. ISSN 0377-8401. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037784010500218X> >.

ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R. L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **J Anim Sci**, v. 63, n. 5, p. 1607-23, Nov 1986. ISSN 0021-8812 (Print) 0021-8812.

RUSSEL, A. J. F. Nutrition of pregnant ewe. In: BODEN, D. (Ed). **Sheep and goat practice**. London: Baillière Trindall, p.29-39, 1991.

SANDS, J. et al. **Responses of pigs to *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets**. 2009. 2581-9.

SANTOS, J. W.; CABRAL, L. S.; ZERVOUDAKIS, J. T.; SOUZA, A. L.; ABREU, A. G.; REVERDITTO, R.; PEREIRA, G. A. C. Níveis de grão de capim-pé-de-galinha (Eleusine coracana) em dietas para ovinos: consumo e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 10, p. 1884-1889, 2008.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 1, p. 1-41, 2007/05/15/ 2007. ISSN 0377-8401. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840106002574> >.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Comstock Publishing Associates/Cornell University Press.: 1994.

VIEIRA, S. L. **Oportunidade para o uso de enzimas em dietas vegetarianas**. IV SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. Chapecó-SC. 91-5 2003.

VIEIRA NETO, J. **Milho duro e dentado na forma de grãos secos e silagem de grãos úmidos para leitões dos 7 aos 15 kg**. 2006 44 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástrico) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

WITTWER, F. **Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos**. In: González F. H. D.; BARCELLOS, J.O.; PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A. O Perfil metabólico em uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.63-74.

YOON, J. H.; THOMPSON, L. U.; JENKINS, D. J. The effect of phytic acid on in vitro rate of starch digestibility and blood glucose response. **Am J Clin Nutr**, v. 38, n. 6, p. 835-42, Dec 1983. ISSN 0002-9165 (Print) 0002-9165.

YOUNG, K. M.; LIM, J. M.; DER BEDROSIAN, M. C. et al. Effect of exogenous protease enzymes on the fermentation and nutritive value of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.11, p.6687- 6694, 2012. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5628> PMID:22981573

CAPITULO 2 - USO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA RAÇÃO PARA OVINOS

RESUMO

Visando melhor aproveitamento alimentar tem-se estudado o uso de enzimas exógenas, para implementar e melhorar a digestibilidade e a degradabilidade ruminal da fibra, amido e proteína presentes nos alimentos utilizados nos sistemas de produção de ruminantes. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da adição de enzimas exógenas na ração de borregas. O experimento foi realizado na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Fazenda Experimental Capim Branco, no período de 23 de setembro a 07 de dezembro de 2016, sob protocolo de aprovação CEUA/UFU nº 093/16. Foram utilizadas cinco borregas, mestiças Dorper/Santa Inês, com idade média de sete meses, e peso médio de 36,4 kg. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas providas de comedouro, bebedouro, saleiro e piso ripado de madeira. Os tratamentos consistiram nas enzimas exógenas incluídas na ração: Allzyme[®] (enzima proteolítica), Fibrozyme[®] (enzima fibrolítica), Amaize[®] (enzima amilolítica) e Mix (complexo enzimático) Controle (sem adição de enzima). Foram avaliados comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade de matéria seca e nutrientes, consumo de água, excreção de fezes e urina, balanço de nitrogênio e perfis metabólicos, energéticos e hepáticos. Os animais foram distribuídos em delineamento quadrado latino 5x5. As médias dos tratamentos foram avaliadas pelo teste de SNK ao nível de significância de 5%. O consumo de matéria seca em relação ao peso corporal (CMS/PC), o consumo de proteína bruta (CPB) e o consumo de nitrogênio (CN) foram superiores para tratamento utilizando a enzima amilolítica, o balanço de nitrogênio foi positivo para todos os animais e maior para as enzimas amilolíticas e fibrolíticas. A digestibilidade aparente foi elevada, porém sem diferenças estatísticas, assim como a digestibilidade da fibra em detergente neutro. Com relação ao comportamento ingestivo observou-se maior tempo em mastigação total nos animais consumindo a dieta com as enzimas fibrolíticas e amilolíticas. Nenhum dos tratamentos provocou alterações na movimentação ruminal. Houve maior concentração das enzimas fofastase alcalina (FA) e gamaglutamil transferase (GGT) nos tratamentos utilizando enzimas exógenas, indicando maior atividade hepática. Com relação aos metabólitos energéticos, houve menor concentração da lipoproteína de baixa densidade (LDL) para os animais consumindo dietas com adição das enzimas. O uso de enzimas exógenas provoca melhor aproveitamento dos nutrientes, com alta digestibilidade da matéria seca, fibra em detergente neutro e proteína bruta.

Palavras chave: amido, fibra, *Ovis aries*, proteína.

CHAPTER 2 - USE OF DIFFERENT EXTRANEAL ENZYMES FOR SHEEP

ABSTRACT

Aiming at the best food use, the use of exogenous enzymes has been studied to implement and improve the digestibility and rumen degradability of fiber, starch and protein present in foods used in ruminant production systems. The objective of this study was to evaluate the effect of the addition of exogenous enzymes in diet of lambs. The experiment was carried out at the Federal University of Uberlândia (UFU), Experimental Farm Capim Branco, from September 23 to December 7, 2016, under approved protocol n° 093/16. Five ewes Dorper/Santa Inês were used, with a mean age of seven months, and mean weight of 36.4 kg. The animals were housed in metabolic cages provided with feeder, drinking fountain, salt shaker and wooden slatted floor. The treatments consisted of the exogenous enzymes included in the diet: Allzyme® (proteolytic enzyme), Fibrozyme® (fibrolytic enzyme), Amaize® (amylolytic enzyme), Mix (enzymatic complex) and Control (without addition of enzyme). Ingestive behavior, intake and digestibility of dry matter and nutrients, water intake, urine volume and density, stool weight and faecal score, nitrogen balance and metabolic, energetic and hepatic profiles were evaluated. The animals were distributed in a 5x5 Latin square design. The means of the treatments were evaluated by the SNK test at a significance level of 5%. The dry matter intake in relation to body weight (DMI / BW) and crude protein intake (CPI) and nitrogen intake (NI) were higher in the treatment using the amylolytic and fibrolytic enzymes, and the nitrogen balance (NB) was superior for proteolytic and amylolytic enzyme treatments. The apparent digestibility was high, but without statistical differences, as well as the digestibility of the neutral detergent fiber. Regarding the ingestive behavior, it was observed a longer time in total chewing in the animals consuming the diet with the fibrolytic and amylolytic enzymes. None of the treatments caused changes in ruminal movement. There was a higher concentration of the enzymes alkaline phosphatase (AP) and gammaglutamyl transferase (GGT) in the treatments using exogenous enzymes, indicating a higher hepatic activity. With regard to energetic metabolites, there was a lower concentration of low density lipoprotein (LDL) for the animals consuming diets with addition of the enzyme. The use of exogenous enzymes causes better utilization of nutrients, with high dry matter digestibility, neutral detergent fiber and crude protein.

Key words: fiber, *Ovis aries*, protein, starch

1. INTRODUÇÃO

Nacionalmente a produção animal necessita de caminhos alternativos que melhorem a eficiência econômica da produção, visto que o produtor, não tem poder de decisão sobre o valor dos insumos ou dos produtos finais. Em geral a alimentação mais barata para ruminantes é o pasto, porém de acordo com a época do ano, idade da planta forrageira e o suprimento de água da região, o pasto tem sua qualidade reduzida devido a modificações estruturais e variações na sua composição química. Portanto, a digestibilidade das fibras não é constante (MACEDO JÚNIOR et al., 2007), no período da seca essas modificações se apresentam de forma mais acentuada, devido aos fatores climáticos limitantes que geram queda na qualidade da forragem. Neste período, a digestibilidade da forragem e os níveis de proteína bruta digestível diminuem.

Diante do exposto, diversas biotecnologias têm sido alvo de pesquisas nas últimas décadas, visando otimizar e maximizar a produção de ruminantes, incrementando os programas alternativos de alimentação ruminal. A utilização de enzimas exógenas constitui uma ferramenta em potencial desenvolvimento, capazes de otimizar a digestibilidade dos alimentos disponibilizando assim maior quantidade de nutrientes ao metabolismo e à produção animal.

Enzimas são proteínas produzidas por organismos vivos como bactérias, fungos ou leveduras, e têm a propriedade de catalisar reações específicas devido ao seu alto grau de afinidade por determinado substrato, sítio de ação (GURUNG et al., 2013), transformando macromoléculas em precursores mais simples. As enzimas são produtos biotecnológicos utilizados como aditivos nutricionais, caracterizam-se pelo extrato enzimático concentrado produzido pela fermentação fúngica ou bacteriana (QUEIROZ et al., 2004), com o intuito de melhorar a eficiência de síntese e aproveitamento dos nutrientes dos alimentos através de sua adição na dieta. Beauchemin et al. (2003), observou aumento na taxa de passagem devido à melhora na digestibilidade do alimento e aproveitamento de seus nutrientes, como consequência disso, um aumento na ingestão da matéria seca.

Ainda é escassa a quantidade de informações sobre o efeito de enzimas sobre o ambiente ruminal, porém, o uso de enzimas exógenas está sendo amplamente estudado para implementar e melhorar a digestibilidade e a degradabilidade ruminal da fibra, amido e proteína presentes nos alimentos utilizados nos sistemas de produção de ruminantes (BEAUCHEMIN et al., 1999). Essa nova estratégia representa grande avanço na nutrição de ruminantes e alternativa para incrementar a produtividade e reduzir os custos da alimentação, já que podem reduzir o uso de grãos, devido ao maior aporte energético proveniente dos substratos fibrosos. Morgavi et al. (2000), puderam verificar a estabilidade dessas enzimas no rúmen, as quais são oriundas da

fermentação realizada por fungos ou bactérias tem atividade amilolítica, fibrolítica ou proteolítica.

Em estudo Morgavi et al. (2000), constataram que além das enzimas agirem diretamente no alimento, as mesmas potencializam a atividade de enzimas microbianas existentes no rúmen, agindo de modo sinérgico, aumentando a hidrólise direta. Logo, são capazes de facilitar a adesão de microrganismos nas células vegetais, aumentando assim a população microbiana ruminal devido ao aumento da disponibilidade de nutrientes. Além disso, também aumentam a atividade fibrolítica no intestino delgado (HRISTOV et al. , 1998), e preconizam o melhoramento da digestão e da passagem do alimento, com a melhora da viscosidade do bolo alimentar na porção inicial do intestino, o que garante melhora na absorção do alimento fazendo com que haja melhor eficiência alimentar. A utilização das enzimas para ruminantes ainda se encontra em fase inicial e apresenta resultados divergentes em algumas pesquisas, o que torna um entrave a aplicação dessa biotecnologia em escala de produção de ruminantes Tendo em vista o exposto, elucida-se a importância da exploração da utilização destas enzimas para animais ruminantes.

Objetivou-se assim, avaliar a utilização de enzimas exógenas como aditivos na alimentação de borregas baseando-se em parâmetros de consumo, digestibilidade, comportamento ingestivo e perfil metabólico.

2. MATERIAL MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Capim Branco, da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais entre 23 de setembro a 07 de dezembro de 2016, e realizado sob aprovação do comitê de ética conforme o protocolo de número CEUA/UFU nº 093/16. Foram utilizadas cinco borregas mestiças das raças Dorper e Santa Inês com idade média de sete meses e peso médio de 36,4 kg alojadas em gaiolas metabólicas individuais próprias para ensaio de digestibilidade *in vivo*, providas de comedouro, bebedouro, saleiro e dispositivo para reter fezes separadamente da urina. O período experimental compreendeu 75 dias e foi dividido em cinco fases, cada uma destas composta por dez dias de adaptação e cinco dias de coleta.

Na tabela 1 apresenta-se a composição das enzimas exógenas utilizadas durante o estudo, de acordo com as informações disponibilizadas pelo fabricante.

TABELA 1- Composição das enzimas utilizados no experimento conforme o fabricante

Composição	Allzyme [®]	Amaize [®]	Fibrozyme [®]
Pectinase	Min. 400 u*/g	-	-
Protease	Min. 700 u*/g	-	-
Fitase	Min. 300 u*/g	-	-
Betaglucanase	Min. 200 u*/g	-	-
Xilanase	Min. 100 u*/g	-	Min. 100 XU* ² /g
Celulase	Min. 40 u*/g	-	-
Amilase	Min. 30 u*/g	Min. 600 FAU* ¹ /g	-

* Uma unidade de atividade enzimática equivalente à quantidade de enzima que dextriniza 1 grama de substrato solúvel por minuto, a pH 4,8 e 30°C; *¹ Uma unidade de atividade enzimática alfa-amilase equivalente a quantidade de enzima que dextriniza 1 grama de amido solúvel por minuto, a pH 4,8 e 30°C; *² Uma unidade de atividade enzimática xilanase equivalente à quantidade de enzima que libera 1 micromol de xilose por minuto a partir de xilano a pH 5,3 e 50°C.

Os tratamentos consistiram na inclusão de diferentes enzimas na ração: Controle (sem adição de enzima), Allzyme[®] (enzima proteolítica), Fibrozyme[®] (enzima fibrolítica), Amaize[®] (enzima amilolítica) e Mix composto pela associação das três enzimas citadas anteriormente. As dosagens utilizadas seguiram as recomendações do fabricante (Alltech[®]). A tabela 2 mostra a composição centesimal dos concentrados em função dos tratamentos.

TABELA 2- Composição centesimal e bromatológica dos concentrados experimentais do sal mineral

Ingredientes	Tratamentos				
	Controle	Allzyme [®]	Amaize [®]	Fibrozyme [®]	Mix
	Composição percentual				
Farelo de milho	80,0%	80,0%	80,0%	80,0%	80,0%
Farelo de soja	15%	15%	15%	15%	15%
Sal mineral	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%
Ureia	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%
Enzimas	-	150g	150g	180g	150g
Adsorvente	400g	400g	400g	400g	400g
Composição do Sal Mineral g/kg*					
Cálcio (mín./máx.)	157,00/212,47 g		Magnésio (mín.)		21,60 mg
Fósforo (mín.)	65,00 g		Zinco (mín.)		3600,00 mg
Enxofre (mín.)	18,00 g		Cobalto (mín.)		64,80 mg
Sódio (mín.)	117,00 g		Iodo (mín.)		14,40 mg
Manganês (mín.)	2160,00 mg		Selênio (mín.)		18,00 mg

MIX-Complexo enzimático (75g allzyme + 75g amaize + 90g fibrozyme). Dados fornecidos pelo fabricante.

O arraçoamento ocorria em dois períodos às 8 horas e às 16 horas. A cada nova fase os animais eram pesados para ajuste de fornecimento de ração, sendo reajustado para manter aproximadamente 10 % de sobras no cocho. O sal mineral específico para ovinos foi fornecido

ad libitum. A ração ofertada aos animais foi composta de 70% de concentrado e 30% de silagem de milho. Na Tabela 3 tem-se a composição bromatológica das rações e da silagem. Nessa proporção a ração permitia ganho esperado de 200g/dia aos animais segundo as recomendações do NRC (2007).

TABELA 3 – Composição bromatológica das rações e da silagem

Fração	Silagem	Controle	Allzyme [®]	Fibrozyme [®]	Amaize [®]	Mix [*]
MS %	38,40	79,60	78,08	78,00	77,12	78,08
PB %	7,36	16,30	18,15	16,53	17,62	17,84

MS – matéria seca; PB- proteína bruta; *MIX-Complexo enzimático (75g allzyme + 75g amaize + 90g fibrozyme).

O consumo de alimento foi determinado a partir da diferença entre o ofertado e as sobras, através das pesagens diárias feitas com balança eletrônica. Amostras de 10% das sobras, do ofertado e das fezes foram coletados durante os cinco dias de cada fase e acondicionadas em sacos plásticos, formando amostras compostas, mantidas em freezer a -15°C. Foram realizadas análises de fibra em detergente neutro (FDN), de acordo com método descrito por Van Soest et al. (1991), e análise de proteína bruta (PB) de acordo com o método Kjeldahl descrito por Silva e Queiroz (2002), para possibilitar o cálculo do consumo e digestibilidade destes nutrientes.

A água fornecida foi medida em proveta plástica graduada em 20 ml, com capacidade máxima de dois litros. Foram ofertados seis litros de água diariamente, no dia seguinte as sobras também foram medidas na mesma proveta graduada. O consumo de água foi determinado a partir da diferença entre o ofertado e a sobras, levando em consideração a quantidade de água que evaporava. Para determinar a quantidade de água que evaporava durante 24 horas, entre fornecimento de água e avaliação das sobras, foi colocado diariamente no galpão um balde com 6 litros de água, em local livre de acesso dos animais, alocados em superfície plana da mesma altura dos baldes colocados nas gaiolas.

Após preparo adequado das amostras, estas foram conduzidas até o LABAN (Laboratório de Nutrição Animal) onde foi realizado análise de proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldahl (SILVA e QUEIROZ, 2002). Em parceria com Instituto Federal do Triângulo Mineiro - campus Uberaba, foram realizadas as seguintes análises bromatológicas: fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), conforme metodologia descrita por Van Soest et al. (1991),

A coleta de urina foi feita utilizando-se baldes plásticos identificados que ficavam sob as gaiolas. Peneiras foram acopladas aos baldes com finalidade de evitar que as fezes e a urina se misturassem. Antes de serem posicionados para a coleta, em cada balde devidamente

higienizado e seco foi acrescido 100mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 2N para evitar possíveis fermentações e perdas de nitrogênio (N) por volatilização.

Todas as manhãs, com auxílio de pipetas de Pasteur descartáveis, gotas de urina foram transferidas do balde coletor para o prisma de amostra do um refratômetro manual portátil Megabrix[®], com o qual a densidade da urina foi aferida. Esse procedimento foi sempre realizado sob luz fluorescente, na mesma posição. Após aferir cada amostra, antes de inserir nova amostra, o prisma do refratômetro foi higienizado e seco com papel toalha, a fim de evitar interferência entre as avaliações. Após aferir a densidade das urinas coletadas, utilizando-se provetas graduadas de plástico com capacidade de dois litros e graduação de 20mL foram medidos os volumes de urina excretados por cada animal durante 24 horas, dos quais foram retiradas amostras de 20% do total. Posteriormente as amostras foram filtradas em filtros descartáveis de papel, posteriormente armazenadas em recipientes plásticos identificados e mantidas a -15°C para análises futuras.

O teor de N da urina foi determinado a partir do método Kjeldahl (SILVA e QUEIROZ, 2002), com adaptações:

Adicionou-se um mL de amostra de urina, 5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) e aproximadamente dois gramas de mistura catalítica em um tubo de ensaio com borda reforçada (25x250 mm), logo após esse procedimento os tubos de ensaio contendo as misturas foram destinados ao bloco digestor. A digestão das amostras iniciava-se em 50°C e o aumento da temperatura era gradativo, de 50°C em 50°C, até que o processo de digestão finda-se sendo esse fim indicado pela mudança de cor das amostras, que assumiam um tom verde fluorescente sendo retiradas de forma individual após atingirem a tonalidade esperada.

Após retiradas do bloco digestor, as amostras permaneciam na capela de exaustão por aproximadamente 30 minutos até esfriarem atingindo a temperatura ambiente. O processo de destilação das amostras se dava logo em seguida, adicionando um pouco de água destilada (aproximadamente 2 ml) à amostra digerida. No aparelho de destilação adicionou-se 25 mL de hidróxido de sódio 50% (NaOH) e 20 mL de ácido bórico (H₃BO₃) em erlenmeyer era acoplado na saída do sistema destilador. O volume de amostra destilada coletada foi de 130 mL, portanto, quando atingia-se o volume de 150ml no erlenmeyer a amostra seguia para a titulação. A titulação foi feita utilizando ácido clorídrico (HCl) a 0,1N, adicionando o ácido com auxílio de bureta graduada e agitador magnético até a amostra mudar de cor. A quantidade de ácido gasto na titulação foi utilizada para calcular o teor de N da amostra, através da seguinte fórmula:

$$\%N = \frac{(V \times FC \times N \times 0,014)}{P} \times 100$$

Onde:

V = volume de HCl 0,1N gasto na titulação; FC = fator de correção do HCl 0,1N; N = normalidade do ácido utilizado na titulação; 0,014 = miliequivalente-grama do nitrogênio; P = peso da amostra em gramas.

O balanço de N, o N retido, o consumo de N (CN) e a relação entre N ingerido e N retido (NING/NRET) foram calculados utilizando-se fórmulas descritas por Zeoula *et al.* (2006):

$$BN = [(N \text{ fornecido g} - N \text{ das sobras g}) - (N \text{ nas fezes g} + N \text{ na urina g})]$$

$$CN = N \text{ fornecido g} - N \text{ das sobras g}$$

$$NRET/NING = BN/CN.$$

Antes da coleta, as fezes eram classificadas em graus de escore fecal conforme sugerido por Gomes (2008), sendo que na escala um (1) as fezes são ressecadas e sem brilho; na escala dois (2) as fezes são normais; na escala três (3) as fezes são ligeiramente amolecidas; na escala quatro (4) as fezes são amolecidas, perdendo o formato e coladas umas às outras (cachos de uva); na escala cinco (5) as fezes são amolecidas e sem formato normal (fezes de suínos); e na escala seis (6) as fezes são diarreicas.

Ao final de cada período de coletas, após descongeladas à temperatura ambiente por 12 horas, as amostras de sobras, do ofertado e das fezes foram homogeneizadas e em seguida submetidas a primeira secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, logo em seguida processadas em moinho tipo Willey utilizando peneiras de 1mm. Ao final da moagem as amostras foram encaminhadas ao LABAN (Laboratório de Nutrição Animal) onde passaram pela segunda secagem em estufa a 105°C durante 24 horas. Após o término dos dois procedimentos citados anteriormente calculou-se a matéria seca definitiva das amostras. A digestibilidade aparente dos nutrientes e o consumo foram estimados através das seguintes fórmulas (Maynard *et al.*, 1984):

$$CN = (\text{Cons} \times \% \text{cons}) - (\text{Sob} \times \% \text{sob})$$

$$DA = \frac{CN - (\text{Fez} \times \% \text{fez}) \times 100}{CN}$$

CN

Onde:

CN = consumo do nutriente (kg); Cons = quantidade de alimento consumido (kg); %cons = teor do nutriente no alimento fornecido (%); Sob = quantidade de sobra retirada (kg); %sob = teor

do nutriente nas sobras (%); DA = digestibilidade aparente (%); Fez = quantidade de fezes coletada (kg); %fez = teor do nutriente nas fezes (%).

A avaliação comportamental se deu sempre no último dia de coleta de dados, sendo realizada observação durante 24 horas consecutivas por pessoas treinadas divididas em 6 turnos de 4 horas, durante os quais cada observador anotava em uma prancheta o que cada animal estava realizando em intervalos 5 minutos. As atividades registradas foram: ingestão (quando o animal estava se alimentando ou bebendo água), ócio e ruminação de acordo com a método proposto por JOHNSON e COMBS (1991). Durante a avaliação noturna, o ambiente foi iluminado artificialmente, portanto para promover adaptação dos animais às luzes, as mesmas foram mantidas acesas durante os cinco dias antecessores à avaliação.

A eficiência de ingestão pela MS ($EING_{MS}$) e FDN ($EING_{FDN}$) foi calculada pela divisão do consumo de MS e FDN e tempo de ingestão (CMS/ING e FDN/ING), a eficiência de ruminação em função do consumo de MS e FDN ($ERUM_{MS}$ e $ERUM_{FDN}$) foi calculada como relação entre o consumo de MS e FDN em função do tempo de ruminação (CMS/RUM e FDN/RUM), e a eficiência de mastigação total foi calculada pela divisão do consumo de MS e FDN ($EMAST_{MS}$ e $EMAST_{FDN}$) em função do tempo de mastigação total ($CMS/MAST$ e $FDN/MAST$).

A movimentação ruminal foi determinada por auscultação com auxílio de estetoscópio durante 5 minutos consecutivos conforme método descrito por Radostits et al. (2007). A ausculta era realizada sempre pelo mesmo observador no terceiro dia do período de coletas, uma hora após o primeiro arraçoamento.

Para mensurar a concentração glicêmica foi feita sequência de coleta de sangue no último dia de fase, nos seguintes horários: às 8h00 (antes do primeiro arraçoamento), 11h00, 14h00, 17h00 e 20h00 (antes do segundo arraçoamento), cinco coletas por animal durante cada período de coleta, totalizando 25 coletas por animal durante o experimento. Exclusivamente nos dias de coleta para glicemia o segundo arraçoamento ocorria após a última coleta. Para coleta do sangue foi feita a contenção manual dos animais e puncionou-se a veia jugular com auxílio de um *vacuntainer* acoplado a tubo contendo anticoagulante (fluoreto de sódio e EDTA). Para análise dos metabólitos proteicos, energéticos e perfil hepático utilizou-se também kit comercial da LabTest[®]. As coletas de sangue para esses testes foram feitas às oito horas, antes do primeiro arraçoamento, em dias alternados (1º, 3º e 5º dia), totalizando três coletas por fase, foram utilizados tubos sem anticoagulante seguindo os mesmos procedimentos de coleta citados anteriormente. Após a coleta, todas as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 4.500 rotações por minuto e o soro separado em micro tubos para congelamento.

As mesmas foram analisadas no laboratório de patologia clínica com analisador bioquímico semiautomático (Bioplus 2000), utilizando o kit comercial da LabTest®.

Analisou-se ureia, creatinina, albumina, globulina, razão albumina globulina (A/G) e proteínas totais (PT) para avaliar o perfil metabólico proteico dos animais. Fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamil transferase (GGT), alanina aminotransferase (ALT) para avaliar o perfil hepático. Já para avaliação do perfil energético foram mensurados colesterol, triglicerídeos, frutossamina, lipoproteína de alta densidade (HDL) lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), as relações entre colesterol total e lipoproteína de alta densidade (CT/HDL) e relação entre lipoproteína de alta densidade e lipoproteína de alta densidade (LDL/HDL).

Utilizou-se delineamento em quadrado latino (5x5), composto por cinco tratamentos e cinco repetições. As médias dos tratamentos foram avaliadas pelo teste de SNK ao nível de significância de 5%. No quadro abaixo pode-se observar a distribuição dos tratamentos em cada fase do experimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 4 apresenta dados referentes ao consumo dos nutrientes em função das enzimas exógenas fornecidas as borregas. O consumo de matéria seca (CMS), manteve-se dentro do valor estimado pelo NRC (2007) para borregas nessa categoria, que é de 1,06 Kg/MS/dia, apenas para os tratamentos Amaize® e Fibrozyme®. Esses dois tratamentos também apresentaram valores maiores do que os demais tratamentos. Devido ao fato da enzima amilolíticas (AMAIZE®) degradar o amido do alimento de forma mais efetiva, o teor de energia disponível no ambiente ruminal aumenta. Essa maior quantidade de energia disponível pode ser benéfica para a degradação da fibra, pois dá suprimento aos microrganismos que conseqüentemente reduzem o tempo de colonização das partículas fibrosas. Quando o animal digere a fibra de forma mais eficiente, há uma redução do tamanho dessas partículas no rúmen e a taxa de passagem aumenta (MERTENS et al., 1994), como consequência, ocorre o esvaziamento do trato digestório mais rapidamente e os animais podem realizar outra refeição (MACEDO JÚNIOR et al., 2007), o que justifica o maior CMS (g/dia) das borregas quando receberam enzimas amilolíticas (Amaize®) e fibrolíticas na dieta (Fibrozyme®).

TABELA 4 - Consumo de matéria seca (CMS) consumo de matéria seca em função do peso corporal (CMS/PC), consumo de matéria seca em função do peso metabólico (CMS/PM), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de fibra em detergente neutro em função do peso corporal (CFDN/PC), consumo de fibra em detergente ácido (CFDA), consumo de hemicelulose (CHEMIC), consumo de proteína bruta (CPB) e consumo de nitrogênio (CN) de acordo com os diferentes tratamentos

TRATAMENTO	CMS (Kg/dia)	CMS/PC (%)	CMS/PM (g/kg ^{0,75})	CFDN (Kg/dia)
CONTROLE	0,878B	2,18AB	54,85AB	0,292
ALLZYME [®]	0,899B	2,25AB	56,60AB	0,274
FIBROZYME [®]	1,065A	2,57AB	65,14AB	0,316
AMAIZE [®]	1,095A	2,67A	67,53A	0,301
MIX	0,830B	2,07B	52,14B	0,248
MG	0,953	2,35	59,25	0,286
CV	11,51	11,86	11,73	15,41
P VALOR	0,0076	0,0231	0,0167	0,2053
TRATAMENTO	CFDN/PC (%)	CHEMIC (Kg/dia)	CFDA (Kg/dia)	CPB (Kg/dia)
CONTROLE	0,71	0,173	0,118	0,141B
ALLZYME [®]	0,68	0,184	0,089	0,186AB
FIBROZYME [®]	0,75	0,205	0,111	0,168AB
AMAIZE [®]	0,73	0,199	0,101	0,199A
MIX	0,62	0,162	0,086	0,165AB
MG	0,70	0,185	0,101	0,172
CV	15,49	15,35	25,20	11,83
P VALOR	0,3833	0,1677	0,2794	0,0075

MG – média geral; CV – coeficiente de variação. Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%.

Animais em desenvolvimento apresentam estreita relação entre o CMS ligado ao PC e à composição da dieta. O CMS/PC é uma medida mais objetiva quando relacionada ao tamanho do animal, porém influenciada pela condição corporal do animal, tornando o peso metabólico do animal (PM) uma medida que corrige o PC para a determinação de CMS. Conforme exposto anteriormente, o CMS em dietas com maior digestibilidade é regulado pela demanda de energia, além desse fator, o PM também se apresenta como fator regulador de CMS. Há uma estreita relação entre PM do animal e a capacidade de CMS, uma vez que o tamanho do rumen determina sua taxa de enchimento. Observa-se portanto, que em dietas que beneficiaram a taxa de passagem, tratamentos Amaize[®] e Fibrozyme[®], o CMS foi maior, e os valores de consumo de matéria seca em função do peso corporal (CMS/PC) e de consumo de matéria seca em função do peso metabólico (CMS/PM) assumem praticamente o mesmo comportamento de acordo com fornecimento das diferentes enzimas exógenas.

O valor mais elevado de CMS/PC foi para os animais que receberam enzimas amilolíticas na dieta (AMAIZE). Para esses mesmos dados (CMS/PC), observa-se que os animais que receberam o tratamento MIX obtiveram os menores valores, infere-se que possa ter havido uma interação negativa entre os compostos enzimáticos quando fornecidos de forma simultânea o que comprometeu o CMS/PC e CMS/PM das borregas quando estas receberam este complexo enzimático na dieta.

Para todos os tratamentos o CSM/PC foi baixo, a média geral foi de 2,35% apresentando valores inferiores a 3,54% valor preconizado pelo NRC (2007) para essa categoria animal. A redução no CMS/PC observada pode ter relação direta com a natureza da dieta ofertada (Tabela 2), uma vez que a mesma possuía 30% de volumoso e 70% de concentrado (a base de farelo de milho). Dietas concentradas possuem maior densidade de partículas, aumentando a pressão osmótica dentro do rumen com conseqüente maior exposição da matriz da ração aos microrganismos ruminais acelerando a fermentação, aumentando a digestibilidade e reduzindo o CMS (KOZLOSKI, 2011). Logo, pode-se inferir que ocorreu regulação metabólica do CMS pelos animais devido à grande quantidade de concentrado em todas as dietas e maior quando associamos a natureza da dieta com a alta capacidade fermentativa das enzimas exógenas, atendendo a exigência metabólica de energia e deprimindo o apetite, reduzindo o CMS.

Em relação às variáveis consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) e consumo de fibra em detergente neutro em função do peso corporal (CFDN/PC), apresentaram o mesmo comportamento, não havendo diferença entre valores encontrados nos tratamentos contendo as diferentes enzimas exógenas. Os níveis de CFDN/PC encontrados para as diferentes enzimas foram baixos tendo em vista que animais ruminantes devem manter o CFDN próximo a $1,2\% \pm 0,1$ do peso corporal de acordo com Mertens, (1987) e entre 0,8 e 1,2% conforme sugerido por Van Soest, (1994). Porém, esse baixo CFDN pode ser explicado pela própria composição da dieta (Tabela 2), uma vez que era composta de 70% de concentrado farelado e 30% de silagem de milho, fornecendo baixa quantidade de FDN via dieta ao animal.

A alta quantidade de grãos e baixa quantidade de volumoso ofertada na ração para as borregas (Tabela 2), influenciou ainda, no baixo consumo de hemicelulose (CHEMIC) e do consumo de fibra em detergente ácido (CFDA) dos animais, uma vez que o CMS também demonstrou-se baixo para todos os tratamentos.

Para todos os tratamentos os animais apresentaram consumo de proteína bruta (CPB) superior ao recomendado pelo NRC (2007), que é de 0,136 kg/dia para categoria animal analisada, sendo a média de consumo encontrada 26,5% maior que o recomendado. As exigências proteicas dos animais ruminantes são atendidas pela absorção intestinal dos

aminoácidos oriundos da síntese de proteína microbiana no rúmen e da proteína dietética não-degradada no rúmen (VALADARES FILHO; VALADARES, 2001). Essa produção de proteínas microbianas está diretamente ligada à fermentação dos carboidratos no rúmen e é altamente dependente de energia. A fonte mais prontamente disponível de energia no ambiente ruminal são os carboidratos não estruturais (MEDEIROS e MARINO, 2015), que na dieta dos animais em estudo, foi o amido proveniente tanto da silagem de milho quanto do concentrado (Tabela 2). Portanto, animais que receberam a enzima exógena com propriedades amilolíticas (AMAIZE[®]) e fibrolíticas (Fibrozyme[®]) tiveram o maior CPB em função de terem apresentado o maior CMS, uma vez que as dietas eram isonitrogenadas. Verificou-se que o consumo de nitrogênio (CN) seguiu o comportamento do CPB (Tabela 5).

Dados referentes ao consumo, excreção retenção e balanço de nitrogênio (BN) estão expostos na tabela 5.

TABELA 5. Consumo de nitrogênio (CN), excreção de nitrogênio fecal (N. fecal), excreção de nitrogênio na urina (N. Urina), nitrogênio retido em função do nitrogênio ingerido (N.RET/N.ING), balanço de nitrogênio (BN) por borregas em função dos tratamentos

TRATAMENTO	CN (g/dia)	N. fecal (g/dia)	N. urina (g/dia)	N.RET/N.ING	BN (g/dia)
CONTROLE	22,67C	4,31	7,37	0,40	9,42B
ALLZYME [®]	29,79B	4,55	8,99	0,57	17,27A
FIBROZYME [®]	28,09B	5,11	11,10	0,46	12,76AB
AMAIZE [®]	33,22A	4,59	10,01	0,54	17,95A
MIX	26,19BC	4,25	10,65	0,48	12,91AB
MG	27,99	4,56	9,62	0,49	14,06
CV (%)	10,04	19,85	22,87	24,41	26,12
P VALOR	0,0009	0,5872	0,1193	0,2559	0,0171

MG – média geral; CV – coeficiente de variação. Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%.

Notou-se que o CN foi maior para o tratamento utilizando a enzima AMAIZE[®]. Esse maior valor deve-se ao fato de que os animais receberam grande quantidade de concentrado na dieta (Tabela 2) e também devido ao maior CMS e CPB observados para este tratamento. Geron et al. (2015), avaliando a inclusão de concentrado na ração de cordeiros (20 a 80%) evidenciaram que o consumo de nitrogênio se eleva ao passo que se aumenta a fração de concentrado na dieta.

Apesar dos animais dos tratamentos CONTROLE e MIX terem recebido também grande quantidade de concentrado e o segundo ter recebido ainda o complexo enzimático na dieta, estes dois tratamentos apresentaram os menores valores para CN. Infere-se que os animais do

tratamento controle, que não recebeu enzimas exógenas como aditivo, não teve um CN melhor devido ao fato de o aproveitamento e digestibilidade dos nutrientes oriundos da dieta não terem sido otimizados, fazendo com que o CN seja menor que nos demais tratamentos. Já para os animais do tratamento mix o menor CN pode ter sido ocasionado devido a uma possível interação negativa entre as enzimas exógenas quando fornecidas em conjunto.

Os valores de excreção de nitrogênio encontrados na literatura variam entre 4,0 e 8,5 g/dia (HENRIQUE et al., 2003; MORENO et al., 2010; BRINGEL et al, 2011; MORGADO et al., 2014), sendo que a média encontrada nesse estudo se encontra aproximadamente 25% acima do proposto, indicando que os animais mobilizaram energia para a excreção de N na urina. Com relação ao nitrogênio fecal, o valor médio encontrado na literatura varia entre 2,8 e 12,3 g/dia (HENRIQUE et al., 2003; MORENO et al., 2010; BRINGEL et al, 2011; MORGADO et al., 2014), indicando que os animais neste estudo aproveitaram a proteína fornecida via dieta, o que também pode ser evidenciado pelos CPB (Tabela 4) e digestibilidade da proteína bruta (DPB) (Tabela 6).

Em ruminantes, os compostos nitrogenados da dieta são convertidos em amônia por ação das enzimas microbianas no rúmen. A ingestão de alimentos rapidamente fermentescíveis, como o amido, aumenta a atividade microbiana, causando substancial flutuação nos produtos finais da fermentação (ácidos graxos voláteis e amônia). Portanto, quando associou-se à dieta rica em amido ao tratamento enzimático otimizou sua degradação, AMAIZE[®], elevou-se a atividade microbiana devido ao maior aporte energético.

Pode-se observar que o balanço de nitrogênio (BN), ou nitrogênio retido foi maior nos tratamentos utilizando as enzimas AMAIZE[®] e ALLZYME[®], os mesmos tratamentos onde houve maior DPB (Tabela 6), indicando maior aproveitamento da proteína pelos animais. Além disso, vale ressaltar que o BN apresentou valores positivos em todos tratamentos, apesar do incremento da excreção de N pela urina, comprovando que houve melhor aproveitamento da proteína dietética, uma vez que a excreção de nitrogênio (urinário e fecal) foi inferior à ingestão do nutriente.

Na tabela 6 nota-se que para as variáveis de digestibilidade da matéria seca (DMS) e digestibilidade da fibra em detergente neutro (DFDN) não houve diferença ($P < 0,05$) em função do fornecimento de enzimas exógenas na dieta.

A digestão de proteína bruta apresentou-se maior para o tratamento ALLZYME[®], no qual os animais receberam enzima exógena com atividade proteolítica e no tratamento AMAIZE[®]. O resultado maior do tratamento ALLZYME[®] demonstra que houve eficiência deste aditivo de acordo com sua finalidade proposta de degradar proteína.

TABELA 6- Digestibilidade da matéria seca (DMS), digestibilidade da fibra em detergente neutro (DFDN) e digestibilidade da proteína bruta (DPB) por borregas em função dos tratamentos

TRATAMENTO	DMS (%)	DFDN (%)	DPB (%)
CONTROLE	81,96	63,10	80,83BC
ALLZYME [®]	82,57	63,46	84,83A
FIBROZYME [®]	82,66	60,63	79,92C
AMAIZE [®]	84,61	62,58	85,12A
MIX	82,52	59,35	83,94AB
MG	82,87	61,82	82,93
CV	2,44	7,81	3,35
P VALOR	0,3381	0,6274	0,0349

MG – média geral; CV – coeficiente de variação. Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%.

Já o resultado mais elevado para a digestibilidade da proteína bruta (DPB) do tratamento AMAIZE[®], reforça a teoria de que os microrganismos ruminais necessitam de maior aporte energético, promovido pela melhor digestão do amido, para sintetizar maior quantidade de proteínas de origem microbiana. Podemos afirmar esta característica quando analisamos o maior BN observado nestes tratamentos bem como na relação NRET/NING.

No presente estudo, os animais apresentaram média de 82,87% de DMS, e média de 61,82% na DFDN. Estas taxas de digestibilidade podem ser explicadas pelo fato de que as borregas receberam grande quantidade de grãos presente no concentrado (Tabela 2), ou seja, receberam muito amido que é prontamente digerido pelos microrganismos ruminais. Logo, pode-se afirmar que a dieta altamente fermentescível, supria a demanda energética dos microrganismos ruminais e que houve maior eficiência tanto para DMS quanto para a DFDN. Explicando este resultado, Mertens (1994) e Conrad et al. (1964) mostraram que em dietas com valores de digestibilidade menores que 66% a ingestão de alimentos é determinada por fatores físicos, ou seja, estão relacionados à distensão física do rumen-retículo. Já em dietas com valores superiores a 66% de digestibilidade, são os fatores fisiológicos que controlam a ingestão de alimentos, ou seja, pelo balanço energético ou nutricional da dieta. Ainda, vale destacar que a DMS e DFDN mantiveram-se altas em todos os tratamentos, inclusive naqueles que apresentaram CMS inferior ao recomendado pelo NRC (2007), mostrando a eficiência das enzimas e da dieta de alta qualidade no aproveitamento dos nutrientes presentes.

Na tabela 7, está representado o consumo de água (CH₂O) expresso em l/dia, este foi maior para o tratamento Allzyme[®], no qual o fornecimento de enzimas exógenas favoreceu a DPB e ao BN (Tabela 5), além disso a dieta fornecida aos animais em estudo era rica em fontes

NNP (ureia), PB (farelo de soja), amido e alta matéria seca (Tabelas 2 e 3). Infere-se que com a maior ingestão NNP, PB, amido e maior teor de matéria seca promoveu-se também maior ingestão de água, uma vez que o organismo precisa de mais água para metabolizar os nutrientes excedentes, e conseqüentemente evitar intoxicação por amônia e controlar o potencial osmótico do rumem, relação entre solventes e solutos no líquido ruminal (SUAREZ, 2014).

TABELA 7 – Consumo de água em função do consumo de matéria seca (CH₂O/CMS), consumo de água (CH₂O), peso das fezes na matéria natural (FMN), fezes na matéria seca (FMS), escore fecal (EF), volume de urina (VU) e densidade da urina (DSD) de acordo com os tratamentos

TRATAMENTO	CH ₂ O/ CMS	CH ₂ O L/DIA	FMN (g)	FMS (g)	EF*	VU L/DIA	DSD
CONTROLE	3,28 AB	2,90BC	0,307	0,155	1,83	1,43	1,0176
ALLZYME [®]	3,13 AB	3,50A	0,407	0,169	2,47	1,34	1,0204
FIBROZYME [®]	3,87 A	2,92BC	0,371	0,159	2,27	1,51	1,0178
AMAIZE [®]	2,84 B	3,40AB	0,429	0,178	2,32	1,07	1,0230
MIX	3,34 AB	2,73C	0,317	0,148	1,95	1,06	1,0226
MG	3,29	3,09	0,366	0,162	2,16	1,28	1,0202
CV	12,16	10,36	27,86	17,37	-	24,60	0,47
P VALOR	0,0199	0,0083	0,2943	0,5135	0,1828	0,1416	0,2787

*Estatística não paramétrica; MG – média geral; CV – coeficiente de variação. Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%.

Destaca-se que os animais do tratamento Mix apresentaram menor consumo de água (l/dia). Esse mesmo tratamento apresentou menores valores do consumo de matéria seca e consumo de nitrogênio, evidenciando a relação entre matéria seca e nitrogênio consumidos com a ingestão de água.

Segundo o NRC (2007), para ovinos recomenda-se o consumo mínimo de 2 a 3 L/kg de MS. O consumo de água em função do consumo de matéria seca (CH₂O/CMS) foi maior para os animais que receberam a enzima com propriedade fibrolítica (Fibrozyme[®]), tratamento esse em que houve maior CMS (Tabela 4). O tratamento com enzima Amaize[®] apresentou o segundo maior valor de CH₂O/CMS, e ao observarmos o CMS para esse tratamento (Tabela 4), nota-se que também houve um valor elevado. Portanto, neste estudo observou-se comportamento semelhante para animais cujo fornecimento das enzimas exógenas promoveram maior consumo de matéria seca.

Forbes (1968) citado pelo NRC (2007) propôs equação que possibilita calcular exigência para ingestão de água diária para ovelhas através do CMS, sendo esta: CH₂O = 3,86 x CMS – 0,99. Utilizando a média do CMS encontrado para os tratamentos, têm-se que a ingestão de água recomendada é de 2,69 litros por dia, ou seja, os animais ingeriram quantidade

média de água 14,9% acima do necessário. Ainda os animais recebendo a enzima fibrolítica apresentaram consumo de água 43,9% acima do recomendado, sendo que o maior consumo de água observado pode estar associado ao maior CMS observado também para o mesmo tratamento, e, junto com a alta DMS encontrada (Tabela 6) espera-se alta atividade fermentativa no rúmen, necessitando assim de maior ingestão de água (FORBES,1968).

Não foi observada diferença para peso das fezes na matéria natural (FMN) e peso das fezes na matéria seca (FMS), o que pode ser relacionado a diferentes fatores, como a digestibilidade ter se mantida alta e estável entre os tratamentos e o fato das cordeiras em avaliação terem recebido dietas contendo a mesma porcentagem de volumoso em relação ao concentrado (Tabela 2). Não houve diferença entre os graus de escore fecal (EF) apresentados pelas borregas em função das diferentes suplementações com enzimas exógenas, a média geral do EF das cordeiras em estudo foi de 2,16, considerado normal tendo em vista a método de avaliação em graus de escore fecal sugerido por Gomes (2008).

Em relação ao volume urinário (VU) dos animais expresso em l/dia não houve diferença em função dos diferentes fornecimentos de enzimas exógenas, a média geral da produção de urina apresentada foi de 1,28l/dia. Para Reece (2006), em ovinos a excreção de urina deve ficar entre 100 e 400ml para cada 10kg de peso vivo. Os animais em estudo tinham peso médio de 36,4Kg, ou seja, a excreção de urina deve variar entre 364-1456mL podendo afirmar, portanto que a excreção média de urina apresentada pelas borregas foi compatível com a faixa de recomendação. Segundo Hendrix (2005), para ovinos a variação da densidade urinária é entre 1,020 e 1,040. Não houve diferença da densidade de urina (DSD) em função do fornecimento de enzimas exógenas para as borregas em estudo. O valor médio encontrado para essa variável foi de 1,0202, considerada normal para a espécie.

Na tabela 8 estão dispostos os dados referentes a movimentação ruminal e parâmetros comportamentais. Para os valores de movimentação ruminal (MR) não houve diferença em função do fornecimento das diferentes enzimas exógenas, os animais observados apresentaram média de 6,87 MR durante o período de 5 minutos. De acordo com Faria (2010), a movimentação ruminal de ovinos em conforto térmico é de 1 a 2 movimentos por minuto, o que demonstra que o valor médio geral permaneceu dentro do esperado, pois, mesmo as borregas recebendo alta quantidade de concentrado na dieta (Tabela 2), observou-se alta digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, podendo inferir que houve aumento na taxa de passagem e conseqüentemente a fisiologia e a saúde ruminal foram mantidas.

Em relação às variáveis de parâmetros comportamentais, não houve diferença dos tempos de ruminação, ingestão, ócio e mastigação (somatório do tempo de ingestão e

ruminação) em função das enzimas exógenas, quando analisadas no período de 24 horas. A média apresentada para os parâmetros comportamentais foram de 15,41 horas (15h 24'6'') para ócio (64,21%); 5,68 horas (5h 40'8'') para ruminação (23,67%) e 2,91 horas (2h 54'6'') para ingestão (12,12%).

TABELA 8- Movimentos ruminiais (MR), tempo em ócio, tempo de ruminação, tempo de mastigação (Mast), eficiência de ruminação em função do consumo de matéria seca (Ef Rum MS), eficiência de ingestão em função do consumo de matéria seca (EF ING MS), - eficiência de mastigação em função do consumo de matéria seca (EF MAST MS) de acordo com diferentes tratamentos

Tratamento	MR/ (5min) ¹	Ócio (min)	Ruminação (min)	Ingestão (min)	Mast (min) ²
Controle	7,20	895,00	361,00	184,00	545,00
Allzyme [®]	6,60	932,00	315,00	193,00	508,00
Amaize [®]	7,00	941,00	345,00	154,00	499,00
Fibrozyme [®]	6,80	941,00	332,00	167,00	499,00
Mix	6,75	913,00	351,00	176,00	527,00
MG	6,87	924,40	340,80	174,80	515,60
CV	7,40	7,52	16,43	17,47	13,48
Tratamento	Ef Rum MS (g/min)	Ef Ing MS (g/min)	Ef Mast MS (g/min)		
Controle	2,51	5,01	1,63	B	
Allzyme [®]	2,87	4,80	1,79	AB	
Fibrozyme [®]	3,20	7,33	2,19	A	
Amaize [®]	3,28	6,25	2,10	A	
Mix	2,51	5,72	1,67	B	
MG	2,88	5,82	1,88		
CV	18,55	26,06	15,99		
P VALOR	0,1132	0,1224	0,0376		

¹Avaliado conforme método proposto por Radostits et al., 2007; ²T RUMINAÇÃO+T INGERINDO; MG - Média geral; CV- Coeficiente de variação (%); Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%.

Van Soest (1994) estabeleceu que a atividade de ruminação em animais adultos deve ocupar em torno de 8 horas por dia, podendo apresentar variações entre 4 e 9 horas. O resultado obtido pode ser relacionado ao fato dos animais estarem confinados em gaiolas metabólicas, o que facilitou o acesso dos animais ao alimento, reduzindo assim o tempo de ingestão e aumentando o tempo em ócio. Além disso, as borregas receberam dietas compostas por 70% de concentrado, alimento que é mais processado, conseqüentemente mais facilmente ingerido e digerido. Segundo Mertens (1987), dietas com essa característica possui grande quantidade de carboidratos não fibrosos e são rapidamente digeridas no rúmen, o que gerou baixo estímulo de ruminação, explicando assim o baixo tempo gasto pelos animais para essa atividade.

O tempo gasto pelos animais com a mastigação foi de 8,59 horas, segundo (VAN SOEST, 1994), essa atividade é fundamental para produção de saliva que age no tamponamento ruminal, o que evita distúrbios metabólicos, como a acidose. No presente estudo os animais não apresentaram nenhum sinal de distúrbio metabólico, o que corrobora com os valores de MR encontrados uma vez que a MR normal é indicativa de homeostase ruminal.

Também não foram observadas diferenças para as variáveis de ruminação em função do consumo de matéria seca (Ef Rum MS) e eficiência de ingestão em função da matéria seca (Ef Ing MS) expressas em gramas/minuto. De acordo com Van Soest (1994), o tempo de ruminação é influenciado pela natureza da dieta e é proporcional ao teor de parede celular dos volumosos. Portanto, como os animais receberam dieta com alta quantidade de concentrado (Tabela 2), o tempo de ruminação foi de apenas 5,68 horas o que demonstrou-se eficiente quando observamos que a média obtida para Ef Rum MS foi de 2,88 gramas por minuto.

Na tabela 9 são apresentados dados referentes ao metabolismo proteico dos animais em função das enzimas exógenas.

TABELA 9 – Valores dos metabólitos proteicos de borregas em função das enzimas exógenas

Tratamento	PT (mg/dL)	Albumina (mg/dL)	Globulinas (mg/dL)	A/G
Controle	7,47	3,53	3,94	0,89
Allzyme [®]	7,09	3,22	3,87	0,83
Fibrozyme [®]	8,01	3,90	5,01	0,77
Amaize [®]	8,36	3,31	5,05	0,65
Mix	8,23	2,91	5,31	0,54
VR	6,0 – 7,9	2,4 – 3,0	3,5 – 5,7	
MG	7,83	3,37	4,63	0,736
CV	14,72	21,28	35,19	25,16
Tratamento	Ácido úrico (mg/dL)	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	
Controle	0,50	48,60	0,78	
Allzyme [®]	0,45	46,80	0,76	
Fibrozyme [®]	0,50	46,46	0,75	
Amaize [®]	0,55	54,80	0,78	
Mix	0,52	48,46	0,76	
VR	0 – 1,90	17,12 – 42,80	1,20 – 1,90	
MG	0,50	49,02	0,77	
CV	32,11	18,13	11,90	

PT- proteínas totais; A/G- razão albumina globulina MG- Média geral; CV- Coeficiente de variação (%); VR - Valor de referência (Kaneko et al., 2008). Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%.

Não houve efeito nas concentrações de metabólitos proteicos em função dos tratamentos. A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, correspondendo a

aproximadamente 50% das proteínas circulantes, porém é um indicador em longo prazo do status proteico devido à baixa velocidade de síntese e de degradação (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2003). A albumina é sintetizada no fígado e constituindo uma importante reserva protéica, é transportadora de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. (González et al., 2000), Não houve alteração significativa nos valores encontrados para albumina em função das diferentes enzimas exógenas fornecidas nos tratamentos. Entretanto, a média geral do valor de albumina, foi de 3,37mg/dl, maior 10,97% que o valor referência sugerido por Kaneko et al., (2008), o que pode ser devido à quantidade de proteína fornecida na dieta (Tabela 2) ou ainda pela idade fisiológica dos animais em estudo, que corresponde à puberdade, fase onde há muita atividade hormonal.

Para avaliação do estado nutricional dos animais, a dosagem de albumina é muito utilizada, mas também pode ser utilizada como indicador de doenças renais, quando há proteinúria, afecções hepáticas em estágios avançados e casos de desidratação (PEIXOTO; OSÓRIO, 2007), quando elevada. Mesmo esse metabólito estando acima do valor de referência nos animais em estudo, as situações patológica foram descartadas, pois os mesmos não apresentaram sintomas que indicassem distúrbios fisiológicos e metabólicos.

Os valores referentes à concentração de globulinas mostraram-se dentro dos valores de referência, não havendo diferença entre os tratamentos. A concentração de globulinas é obtida pelo cálculo entre a diferença de concentração das proteínas totais e da albumina. As globulinas podem ser divididas em três tipos, alfa, beta e gama. A globulina não é indicativa de grande representatividade para o aporte nutricional proteico, mas é muito ativa no organismo, como no transporte de substâncias, tais como metais, lipídeos e bilirrubina (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2002). Possui ainda papel na imunidade, podendo aumentar quando de vacinações ou afecções recentes, porém nenhuma dessas situações ocorreram. O avançar da idade dos animais em estudo pode ter influência no aumento dessas proteínas, pois frente à maior exposição do organismo a desafios imunológicos as globulinas tendem a aumentar (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Portanto, considerando que as concentrações de globulina dos animais neste estudo se encontraram dentro do valor de referência, pode-se afirmar que os animais estavam saudáveis, e não passaram por nenhum desafio imunológico durante o experimento. Além disso, níveis de globulinas podem ser usados como método para avaliar estados de adaptação ao estresse. Animais bem adaptados tendem a ter níveis normais de globulinas, enquanto os não adaptados têm os níveis aumentados (GONZÁLEZ,2000), portanto considera-se que os animais em estudo tiveram boa adaptação ao manejo experimental

Os valores de ureia observados nos animais do presente estudo estavam acima dos valores de referência citados por Kaneko et al. (2008), índices que chamam atenção, pois os níveis séricos de ureia e albumina, nos ruminantes, são os principais indicadores do metabolismo proteico. Não houve diferença, também, entre os valores encontrados do ácido úrico, estando os valores dentro dos padrões de referência desta categoria animal. Grande parte do ácido úrico está diretamente relacionado com a síntese de proteína microbiana pelos microrganismos ruminais, portanto, essa relação é diretamente proporcional, ou seja, quanto maior a concentração deste metabólito, maior é síntese de proteína microbiana, consequentemente, maior será o uso da amônia ruminal.

A tabela 5 mostra que os animais do presente estudo tiveram valores médios de excreção urinária 25% acima do máximo proposto na literatura. Essa perda de nitrogênio na urina se deve a transformação da amônia que escapou do ambiente ruminal e foi convertida em ureia no fígado para ser excretada. Portanto, esse aumento da atividade hepática para metabolização de amônia a ureia fica evidenciado ao observarmos os elevados valores da gamaglutamiltransferase (GGT) (Tabela 10). Dessa forma, conclui-se que houve escape ruminal de nitrogênio, o que acabou elevando os valores médios de ureia no sangue (OLIVEIRA et al., 2014; GONZÁLEZ et al. 2000). Esse quadro pode ter sido causado pelo elevado CPB. Além disso, nota-se que quase a totalidade das fontes proteicas das rações são de degradação ruminal. Assim, elevando-se o consumo dessas fontes podemos ter maior perda de amônia ruminal o que acaba elevando a ureia plasmática acima das recomendações da literatura.

Em relação à creatinina plasmática, este indicador estava abaixo do valor recomendado por Kaneko et al. (2008). A creatinina é oriunda do catabolismo da creatina presente nos tecidos musculares e sua concentração é proporcional à massa e atividade muscular (GONZÁLEZ; SILVA, 2006), portanto como os animais púberes estavam alojados em gaiolas metabólicas essa concentração de creatinina baixa pode ser explicada devido à baixa atividade muscular destes e também pelo fato de que o tecido muscular se desenvolve nessa faixa de idade, de intermediária até a puberdade (SANTOS et al., 2001).

Na tabela 10 estão expressos os valores referentes ao perfil hepático e muscular dos animais em estudo. Observa-se que não houve diferença para os valores da aspartatoaminotransferase (AST) em função dos diferentes tratamentos. Para todos os tratamentos os valores mantiveram-se dentro da faixa de recomendação proposta por (Kaneko et al., 2008), indicando que não houve alterações hepática nos animais em estudo.

Entretanto, no tratamento Amaize[®], no qual os animais recebiam enzimas com propriedades amilolíticas, o valor de AST encontrado está acima da faixa de recomendação. O

maior CMS observado para este tratamento associado com a função da enzima pode ter contribuído para este resultado. O aumento da capacidade fermentativa do rúmen junto com o aumento na degradação do amido, eleva a produção de ácidos graxos voláteis, como o principal precursor da glicose, o ácido propiônico, (ROONEY; PFLUGFELDER, 1986), consequentemente demanda-se maior atividade hepática para transformar ácido propiônico em glicose.

TABELA 10- Perfil hepático e muscular de borregas em função do consumo de dietas com enzimas exógenas

Tratamento	AST (U/l)	GGT (U/l)	FA (U/l)	ALT (U/l)
Controle	161,26	62,66 B	284,00 B	28,90
Allzyme [®]	269,06	87,73 A	311, 63 AB	29,70
Amaize [®]	357,86	97,20 A	347, 60 A	33,83
Fibrozyme [®]	214,06	80,16 AB	328, 20 A	26,10
Mix	199,33	94,53 A	328,20 A	32,73
VR	60,00-280,00	20,00 – 52,00	68,00 – 387,00	4,00 – 19,00
MG	240,32	84,45	319,92	30,25
CV	33,97	20,01	8,74	27,56

AST - aspartatoaminotransferase; GGT: gamaglutamiltransferase; FA: fosfatase alcalina; ALT - alaninaaminotransferase MG- Média geral; CV- Coeficiente de variação (%); VR -Valor de referência (Kaneko et al., 2008). Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%.

Com exceção dos tecidos musculares, a GGT está presente em todas as células, apresentando atividade elevada no fígado e nos rins, entretanto os valores encontrados no plasma representam a atividade hepática, visto que a de origem renal é excretada via urina. Porém como houve aumento no metabolismo hepático dos animais que receberam enzimas na dieta, esses valores elevados e acima dos recomendados refletem essa alta demanda do fígado, uma vez que a concentração média de GGT se encontra 62,4% acima do recomendado. Apesar de ter o menor valor, ainda assim o tratamento controle apresentou valor de GGT acima da faixa de referência, uma vez que a dieta possuía elevado nível de concentrado. Aumentos séricos da GGT são verificados, principalmente, em animais com hepatopatias (KANEKO, et al., 2008), porém descarta-se essa possibilidade no estudo, pois os animais não apresentaram sinais compatíveis com esse distúrbio, portanto, admite-se que a intensa atividade hepática foi responsável por elevar os valores observados desta enzima. Inclui-se nessa atividade hepática aumentada a conversão de amônia em ureia discutida na tabela 9.

Segundo Kaneko et al. (2008), a fosfatase alcalina (FA) é uma enzima sintetizada em diversos tecidos, as maiores concentrações observadas no intestino, rins, ossos e fígado. Sendo a FA uma enzima ligada ao metabolismo hepático, o aumento na atividade dessa enzima está

relacionado a maior atividade do fígado durante os processos de metabolização e conversão do excesso de amônia de escape do rúmen em ureia. O menor valor de FA encontrado foi no tratamento CONTROLE, tratamento este que não continha nenhuma enzima favorecendo o aproveitamento de nutrientes, possivelmente esse resultado foi obtido pois os animais que receberam esse tratamento tiveram menor atividade hepática devido ao não fornecimento de enzimas para disponibilizar e otimizar a utilização dos nutrientes, bem como também apresentaram o menor CMS pelos animais (Tabela 4).

Não houve diferença na atividade sérica da ALT em função dos tratamentos. Esta enzima é pouco mensurada em ruminantes, devido à sua baixa concentração nos hepatócitos, porém seu aumento pode refletir lesões musculares sofridas pelos animais, o que também não foi evidenciado na avaliação.

Na tabela 11 estão os dados do metabolismo energético dos animais. Observa-se que a Frutosamina ficou acima da faixa de recomendação.

A frutosamina é uma quetoamina, isto é, está esterificada com a albumina. Olhando a tabela 9 podemos constatar que a albumina ficou acima da faixa de recomendação, que é justificado pelos altos valores de frutosamina. Mesmo não havendo diferenças nos níveis de frutosamina podemos constatar que as dietas promoveram altos aportes energéticos oriundos da fermentação dos carboidratos solúveis, podendo ser comprovado pelos dados de CMS e DMS apresentados na tabela 4.

As frações lipídicas, colesterol e triglicerídeos, não apresentaram diferenças estatísticas e mantiveram-se dentro da faixa de recomendação. Assim como, as lipoproteínas HDL e VLDL. A HDL é uma lipoproteína responsável pelo transporte de colesterol dos tecidos para o fígado para que este seja metabolizado, impedindo a deposição dele nas paredes das artérias (SERRANO, 2002), o que sugere que não houve mobilização de colesterol para o fígado. Em contrapartida, o LDL consiste de uma lipoproteína originária do fígado e é responsável pelo transporte de colesterol deste para os tecidos periféricos. Quando há predominância de LDL, existe a tendência maior de deposição de colesterol nos tecidos, pois eles não conseguem catabolizar o excesso de LDL. A LDL apresentou diferença estatística, sendo que os animais consumindo a dieta CONTROLE (sem adição de enzimas exógenas) apresentaram o maior valor. Dessa maneira, infere-se que a ausência de ação enzimática na dieta CONTROLE tenha alterado a digestão dos componentes solúveis da dieta elevando assim os níveis da LDL.

A relação CT/HDL deve ser o menor possível, uma vez que quanto menor essa relação significa maior quantidade de HDL presente, aumentando o carreamento de colesterol para o fígado. A relação LDL/HDL também deve ser baixa, de modo que quando se aumenta a HDL,

reduz-se a relação, uma vez que quando esta relação esta alta é um indicativo da maior presença de LDL, fato indesejado uma vez que a mesma é uma lipoproteína transportadora de colesterol e moléculas lipídicas do fígado para os tecidos, aumentando as chances de doenças no animal.

TABELA 11– Metabólitos energéticos de borregas em função do consumo de dietas contendo enzimas exógenas

Tratamento	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Frutosamina (μ mol/L)	HDL (mg/dL)	
Controle	55,33	25,86	325,56	37,66	
Allzyme [®]	51,00	19,60	307,93	37,19	
Fibrozyme [®]	50,66	24,80	348,80	41,66	
Amaize [®]	50,46	21,93	319,10	40,06	
Mix	52,93	20,86	327,86	36,80	
VR	52 -76	9 - 30	170 – 174	21,7 – 47,3	
MG	52,08	22,61	325,85	38,68	
CV	8,61	27,24	7,39	15,96	
Tratamento	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	CT/HDL	LDL/HDL	
Controle	20,24 A	5,17	1,65 A	0,52	
Allzyme [®]	9,88 B	3,92	1,38 B	0,26	
Fibrozyme [®]	10,58 B	4,96	1,33 B	0,27	
Amaize [®]	9,10 B	4,38	1,28 B	0,18	
Mix	11,96 B	4,17	1,47 AB	0,35	
VR	29,4 – 65,9	3 – 4	-	-	
MG	12,35	4,52	1,42	0,31	
CV	28,18	27,27	13,67	34,39	
Interação entre Tratamento e horário de colheita para glicemia basal (mg/dL)					
	8:00	11:00	14:00	17:00	20:00
Controle	53,80	63,00	57,40	59,00	54,60
Allzyme	59,80	65,00	52,80	51,20	57,80
Amaize [®] ¹	56,00	58,00	61,60	55,80	61,80
Fibrozyme [®] ²	54,40	53,60	66,80	61,20	62,40
Mix [®] ³	58,40	53,80	53,40	58,00	64,80
VR	50 – 80 mg/dL				

HDL: lipoproteína de alta densidade LDL-lipoproteína de baixa densidade; VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade; CT/HDL: relação entre colesterol e lipoproteína de alta densidade; LDL/HDL: relação entre lipoproteína de baixa densidade e lipoproteína de alta densidade; Média geral; CV- Coeficiente de variação (%); * Valor de referência (Kaneko et al., 2008). Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK a 5%. $Y = 65,626667 - 0,593333X$ $R^2 = 25,71\%$; $2Y = 48,66667 + 0,786667X$ $R^2 = 44,47\%$; $3 Y = 89,019683 - 5,611111X + 0,220635X^2$ $R^2 = 99,31\%$

A relação CT/HDL apresentou diferenças estatísticas, sendo que os tratamentos CONTROLE e a MIX apresentaram os maiores valores. Associando esses resultados com a resposta obtida pela LDL, conclui-se que a ausência de enzimas na dieta CONTROLE promoveu maior acúmulo lipídico no sangue dos animais.

A glicemia dos animais apresentou interação entre os tratamentos e horário de colheita. Verifica-se que os tratamentos AMAIZE® e FIBROZYME® apresentaram pico de glicemia seis horas após a primeira refeição, corroborando com Caldeira, (2005), que afirma que em ruminantes o pico na concentração de glicose ocorre entre três e seis horas após a alimentação (CALDEIRA, 2005). A média geral da glicemia esteve dentro da faixa de recomendação preconizada por Kaneko et al. (2008), assim, pelos valores apresentados, o balanço energético dos animais era positivo.

O status energético dos animais pode ser avaliado pela determinação glicêmica (LOPEZ; STUMPF Jr, 2000). Para manter os níveis plasmáticos de glicose os ruminantes utilizam o mecanismo da gliconeogênese (ORSKOV,1986). Já a regulação fisiológica dos níveis de glicose no sangue, de uma forma geral é coordenada pela insulina (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Entretanto Kozloski, (2011), cita que os ruminantes possuem uma versatilidade bioquímica diferente dos não-ruminantes pois dispõem de várias rotas metabólicas gliconeogênicas hepáticas para a manutenção dos níveis glicêmicos na circulação no período pós-prandial e jejum. Segundo Zanine e Macedo Junior (2006), vários fatores afetam a concentração de glicose, dentre eles a qualidade da dieta, a natureza química dos carboidratos, a temperatura, e a condição fisiológica, o que dificulta a sua compreensão. Diante do exposto, vários são os fatores que influenciam na glicemia dos ovinos. Portanto, faz-se necessário novas pesquisas que busquem compreender e elucidar o funcionamento das enzimas no metabolismo de ruminantes, uma vez que poucos são os trabalhos referentes ao uso de enzimas exógenas na nutrição de ovinos e pouco se sabe sobre os mecanismos de ação desses aditivos.

CONCLUSÃO

As enzimas exógenas Amaize[®], Fibrozyme[®] e Allzyme[®] mostraram-se capazes de melhorar os parâmetros de consumo de FDN e PB. As enzimas Amaize[®], Fibrozyme[®] aumentaram o CMS e promoveram melhor aproveitamento de nutrientes. De uma forma geral as enzimas exógenas quando utilizadas de forma individual promoveram aumento no consumo dos nutrientes mantendo elevados os valores da digestibilidade aparente dos nutrientes, sem causar efeitos deletérios sobre a fisiologia ruminal, comportamento ingestivo, metabolismo proteico, energético e hepático das borregas.

REFERÊNCIAS

- BEAUCHEMIN, K. A. et al. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of animal science**, v. 81, n. 2, p. 37-47, 2003.
- BRINGEL, L. M. L.; NEIVA, J. N. M.; ARAÚJO, V. L.; BOMFIM, M. A. D.; RESTLE, J.; FERREIRA, A. C. H.; LÔBO, R. N. B. Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio em borregos alimentados com torta de dendê em substituição à silagem de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 9, p. 1975-1983, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000900019>
- CALDEIRA, R. M. Monitoração da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.100 n. 555-556, p.125-139, 2005.
- CONRAD, H.R.; PRATT, A.D.; HIBBS, J.W. Regulation of feed intake in dairy cows. 1. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.47, p.54-, 1964.
- FIGUEIREDO, M.R.P.; SALIBA, E. O. S.; BORGES, I.; REBOUÇAS, G. M. N.; AGUIAR E SILVA, F.; SÁ, H. C. M. Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com diferentes fontes de fibra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, p.485-489, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000200026>
- FISCHER, V.; DESWYSEN, A. G.; DÈSPRES, L.; DUTILLEUL, P.; LOBATO, J. F. P. Padrões nectemerais do comportamento ingestivo de ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 2, p. 362-369, 1998.
- FISCHER, V.; DUTILLEUL, P.; DESWYSEN, A.G.; DÈSPRES, L.; LOBATO, J. F. P. Aplicação de probabilidades de transição de estado dependentes do tempo na análise quantitativa do comportamento ingestivo de ovinos - Parte I. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1811-1820, 2000. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000600030>
- FORBES, J. M. The water intake of ewes. **British Journal of Nutrition**, v. 22, p. 33-43, 1968. <https://doi.org/10.1079/BJN19680006>
- GERON, L.J.V.; COSTA, F.G.; SANTOS, R.H.E.; GARCIA, J.; MACHADO, R.J.T.; SILVA, M.I.L.; ZEOULA, L.M.; SILVA, D.A. **Balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com rações contendo diferentes teores de concentrado**. -Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 36, n. 3, p. 1609-1622, maio/jun. 2015. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1609>
- GOMES, S. P. **Tamanho de partícula do volumoso e frequência de alimentação sobre aspectos nutricionais e do metabolismo energético em ovinos**. 2008, 83 f. Tese de Doutorado em Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

GONZÁLEZ, F. H. D. Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: González, F. H. D.; Barcellos, J. O.; Ospina, H.; Ribeiro, L. A. O. (Eds). **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. Avaliação metabólico nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). In: Congresso Nacional de Medicina Veterinária, 29., 2002, Gramado-RS, Brasil. **Anais...** Gramado-RS: SBMV e SOVERGS, 2002. P.5-17.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: González, F.H.D.; Campos, R. (Eds): **Anais** do primeiro Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.73-89, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. Perfil Bioquímico no Exercício. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006.

GURUNG, N.; RAY, S.; RAI, V. A broader review: Microbial enzymes and their relevance in industries medicine, and beyond. **BioMed Research International**, p. 18, 2013.

HENDRIX, C.M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. 4. ed. São Paulo: Rocca, 2005. 556p.

HENRIQUE, W.; SAMPAIO, A. A. M. S.; LEME, P. R.; ALLEONI, G. F.; LANNA, D. P. D.; MALHEIROS, E. B. Digestibilidade e balanço de nitrogênio em ovinos alimentados à base de dietas com elevado teor de concentrado e níveis crescentes de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, suplemento 2, p.2007-2015, 2003. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000800026>

HRISTOV, A. N; MCALLISTER, T. A.; CHENG, K-j. Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzymes in the rumen. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 76, n. 1–2, p.161–168, dez. 1998. Elsevier BV.

JOHNSON, T.R.; COMBS, D.K. Effects of prepartum diet, inert rumen bulk, and dietary polythylene glycol on dry matter intake of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.3, p.933-944, 1991. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78243-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78243-X)

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 928p.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2.ed. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2009. 216p.

LOPEZ, J; STUMPF JUNIOR, W. Influência do grão de sorgo como fonte de amido em ovinos alimentados 373 com feno. Parâmetros plasmáticos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 4, p. 1183-1190, 374 2000.

MACEDO JÚNIOR, G.L.; PEREZ, J.R.O.; ZANINE, A.M.; BORGES, I.; PÉREZ, J.R.O. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal**, v.17, n.1, p.7-17, 2007.

MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J. K.; HINTZ, H. F.; WARNER, R. G. **Nutrição animal**.3. ed. Rio de Janeiro: F. Bastos, 1984. 726 p.

MEDEIROS, S. R.; MARINO, C. T. Carboidratos na nutrição de gado de corte. In: MEDEIROS, S. R.; GOMES, R. G.; BUNGENSTAB, D. J. (Eds.) **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações** - Brasília, DF : Embrapa, 2015. p. 45 – 62.

MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p.1548-1558, 1987.
<https://doi.org/10.2527/jas1987.6451548x>

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JUNIOR, G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison: Wisconsin, 1994. p. 448-478.

MORENO, G. M. B.; SOBRINHO, A. G. S.; LEÃO, A. G.; LOUREIRO, C. M. B.; PEREZ, H. L.; ROSSI, R. C. Desempenho, digestibilidade e balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com silagem de milho ou cana-de-açúcar e dois níveis de concentrado. **Rev. Bras. Zootec.**, v.39, n.4, p.853-860, 2010.
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000400022>

MORGADO, E. S.; EZEQUIEL, J. M. B.; GALZERANO, L.; SANTOS, V. C. Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio de cordeiros alimentados com alto teor de amido ou fibra solúvel em detergente neutro associados ao óleo de girassol. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 457-466, 2014. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n1p457>

MORGAVI, D. P. et al. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **J Dairy Sci**, v. 83, n. 6, p. 1310-21, Jun 2000. ISSN 0022-0302 (Print) 0022-0302.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington, D. C.: National Academy Press, 2007. 384 p.

OLIVEIRA, R. P. M.; MADURO, A. H. P.; LIMA, E. S.; OLIVEIRA, F. F. Perfil metabólico de ovelhas Santa Inês em diferentes fases de gestação criadas em sistema semi-intensivo no Estado do Amazonas. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.15, n.1, p. 81-86, jan./mar, 2014. <https://doi.org/10.5216/cab.v15i1.15720>

ORSKOV, E.R. 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. **J. Anim. Sci.**, 63(5):1624-1633.

PAYNE, J. M.; DEW, S. M.; MANSTON, R.; FAULKS, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. **The Veterinary Record**. v. 87, p. 150-158, 1970.

<https://doi.org/10.1136/vr.87.6.150>

PEIXOTO, L.A.O.; OSÓRIO, M.T.M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação de desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p. 299-304, 2007.

QUEIROZ, R. C.; BERGAMASCHINE, A. F.; BASTOS, J. F. P.; SANTOS, P. C.; LEMOS, G. C. Uso de Produto à base de enzima na dieta de bovinos: Digestibilidade dos nutrientes e desempenho em confinamento. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.33, n.6, p.15481556, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982004000600022>

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. et al. (Eds). *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10.ed. Philadelphia: Saunders, 2007. p.673-762.

REECE, W. O. Função Renal nos Mamíferos. In: REECE, W. O. DUKES – **Fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 68-96.

ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R. L. R. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science*. v.63, n.5, p. 1607-1623, 1986. <https://doi.org/10.2527/jas1986.6351607x>

SANTOS, C. L.; PÉREZ, J. R. O.; SIQUEIRA, E. R.; MUNIZ, J. A.; BONAGÚRIO, S. Crescimento alométrico dos tecidos ósseo, muscular e adiposo na carcaça de cordeiros santa inês e bergamácia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 30, n. 2, p. 493-498, 2001. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000200028>

SERRANO, P.P. **Desempenho, parâmetros sanguíneos, perfil graxo e conteúdo de colesterol na carcaça de frango de corte alimentados com diferentes fontes de ácidos graxos**. 2002. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SUAREZ, S. L. B. **Fatores envolvidos no consumo de material seca**. 2014, 48 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, SINLEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.228-243, 2001.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 476p, 1994.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: González F. H. D.; BARCELLOS, J.O.; PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A. **O Perfil metabólico em uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.63-74.

ZANINE, A; MACEDO JUNIOR, G. L. Importância do consumo da fibra para nutrição de ruminantes. 432 **Revista Electrónica de Veterinária REDVET**, Vol. VII, nº 02, 2006.

ZEOULA, L. M.; FERELI, F.; PRADO, I. N.; GERON, L. J. V.; CALDAS NETO, S. F.; PRADO, O. P. P.; MAEDA, E. M. Digestibilidade e balanço de nitrogênio com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho como fonte de amido em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 5, p. 2179-2186, 2006.