



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Aditivos enzimáticos na alimentação de ruminantes: estratégia para a produção animal

Thayla Sara Soares Stivari^{1*}, Camila Raineri¹, Gustavo Lineu Sartorello²,
Augusto Hauber Gameiro¹ e Juliana Batista Andrade Silva³

¹Programa de Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo.

²Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Dracena, São Paulo.

³Médica Veterinária autônoma.

* Autor para correspondência: thayla.stivari@gmail.com

Resumo

Avanços na nutrição de ruminantes requerem novas estratégias de manipulação da fermentação ruminal para que os efeitos benéficos sejam aprimorados e os deletérios minimizados ou excluídos. Como estratégia tem-se o uso de aditivos alimentares, que ao serem adicionados ao alimento conservam, intensificam ou modificam suas propriedades, sem prejudicar o seu valor nutricional. A utilização de enzimas fibrolíticas na dieta de ruminantes tem apresentado resultados promissores, proporcionando melhorias na degradabilidade da fibra, índices zootécnicos e parâmetros ruminais. Objetivou-se abordar a utilização de aditivos em dietas para

ruminantes, seus avanços nas últimas décadas e compilar resultados obtidos em estudos com enzimas fibrolíticas na nutrição de ruminantes.

Palavras-chave: desempenho animal, digestão ruminal, enzima fibrolítica, nutrição, probiótico

Enzymatic additives in feeding for ruminants: strategy for animal production

Abstract

Advances in ruminant nutrition require new strategies for manipulation of rumen fermentation, so that the beneficial effects are enhanced and the deleterious minimized or excluded. Food additives have been used as a strategy, which when added to food, retain, enhance or modify their properties, without affecting its nutritional value. The use of fibrolytic enzymes in ruminant diets has shown promising results, providing improvements in fiber degradability, production indexes and ruminal parameters. The aim of this review is to address the use of additives in ruminant diets, their advances in the last decades and compile results from studies using fibrolytic enzymes in ruminant nutrition.

keywords: animal performance, fibrolytic enzyme, nutrition, probiotic, ruminal digestion

INTRODUÇÃO

O aprimoramento da eficiência na produção é o principal objetivo dos estudos sobre nutrição de ruminantes, sendo a manipulação da fermentação ruminal considerada ferramenta de destaque. Berchielli e Bertipaglia (2010) definem “manipulação da fermentação ruminal” como todo o processo que altere, aumentando ou diminuindo, o metabolismo normal do rúmen. Os mecanismos e/ou substâncias utilizados para manipular a fermentação no rúmen visam aumentar a digestibilidade da fibra, o maior aproveitamento do

ácido propiônico no rúmen, a manutenção do pH próximo a normalidade, a redução da metanogênese, da proteólise ruminal e a desaminação de aminoácidos. Tais processos remetem às estratégias indiretas ou diretas de manipulação.

As estratégias indiretas abrangem a manipulação da dieta pela inclusão de alimentos e/ou ainda por tratamentos físicos, químicos ou biológicos dos mesmos. Já as estratégias diretas consistem no emprego de aditivos que regulam os processos de fermentação ruminal, aumentando a eficiência da utilização dos nutrientes.

Aditivos para produtos destinados à alimentação animal por definição são, substâncias ou microrganismos adicionados intencionalmente, que normalmente não se consomem como alimento, tenham ou não valor nutritivo, e que afetem ou melhorem as características do alimento ou dos produtos de origem animal, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano (BRASIL, 2004).

Segundo Van Soest (1994), a resposta animal a um alimento depende de complexas interações entre composição da dieta, processamento da mesma e, conseqüentemente, do valor nutritivo, o qual é definido por três componentes: digestibilidade, consumo de alimento e eficiência energética. Portanto, aditivos devem ser avaliados quanto a estas variáveis, com o objetivo de caracterizar a potencialidade de uso na nutrição e alimentação animal.

Os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta, mas auxiliam o processo digestivo favorecendo a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta. Somente uma fração dos componentes das dietas é suplementada com esses aditivos, porém esta situação deverá ou poderá mudar rapidamente assim que o desenvolvimento de novas enzimas alimentares ou novas formas de aplicação desses produtos progredirem (COUSINS, 1999).

Assim, propõe-se abordar a utilização de aditivos em dietas, seus avanços nas últimas décadas e compilar resultados obtidos em estudos com o uso de enzimas na nutrição de ruminantes.

DESENVOLVIMENTO

O progresso da indústria animal, na primeira metade do século XX, resultou dos avanços na área de sanidade animal, do melhoramento genético e do maior conhecimento adquirido sobre as exigências nutricionais, colaborando efetivamente para o aumento dos ganhos e da eficiência zootécnica.

Durante a década de 50, iniciou-se a utilização de antibióticos na alimentação animal para a cura e prevenção de doenças, bem como para acelerar o desenvolvimento animal por meio da exclusão de microorganismos que competissem pelo alimento no trato gastrointestinal (LOYOLA; PAULE, 2006). Os resultados obtidos na época tiveram grande aceitabilidade pelos produtores, pois mesmo com pequenas doses dos produtos, houve otimização do crescimento e da conversão alimentar dos animais, além de prevenção de infecções. Entretanto, com o passar dos anos, em razão do uso indiscriminado desses antibióticos, descobriu-se que tanto microorganismos patogênicos como aqueles desejáveis à saúde animal eram destruídos. A resistência bacteriana alavancou-se tornando os efeitos supostamente esperados, incoerentes e até mesmo opostos. A percepção sobre o acúmulo de resíduos não degradáveis de antibióticos causou inviabilização do consumo dos produtos de origem animal pelo homem.

Tais acontecimentos, somados aos problemas atuais ligados à saúde pública, segurança alimentar e ambiental e ao bem-estar animal, levaram os pesquisadores a buscar novas e seguras estratégias de otimização da produção animal. Dentre as quais encontra-se o uso de aditivos alimentares.

Segundo o decreto de lei nacional Lei nº 76.896 de 06 de janeiro de 1976, ainda em vigor, define-se como aditivo alimentar toda substância

intencionalmente adicionada ao alimento, com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique o seu valor nutricional. Esses aditivos compreendem desde antioxidantes e antifúngicos até pigmentos, edulcorantes, inclusive tamponantes e os ionóforos antibióticos.

Conforme a classificação proposta pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), criada em 2003 na União Europeia, os aditivos foram alocados em cinco categorias de acordo com a função: (1) Aditivos tecnológicos: conservantes, antioxidantes, emulsificantes, estabilizantes, reguladores da acidez, entre outros; (2) Aditivos sensoriais, que ao serem adicionados ao alimento melhoram ou modificam as propriedades organolépticas ou as características visuais como corantes e palatilizantes; (3) Aditivos nutricionais, referindo-se as vitaminas, microminerais, aminoácidos e uréia; (4) Aditivos zotécnicos: qualquer implemento utilizado no favorecimento do desempenho animal, como enzimas, equilibradores da flora intestinal (probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos e nutracêuticos) e promotores de crescimento e/ou eficiência alimentar (ionóforos e os hormônios, principalmente); e (5) Aditivos anticoccidianos.

Potenciais aditivos na alimentação de ruminantes

Dentre os aditivos acima apresentados, os de maior importância para ruminantes são os que atuam na manipulação da fermentação ruminal. Pode-se dizer que os ruminantes domésticos estão em posição favorável em relação aos demais animais de produção, pois são capazes de utilizar fibras em grande quantidade e convertê-las em produtos de elevado valor biológico e assimilável pelo homem (RANGEL et al., 2008). Com isso, a melhoria da eficiência de conversão dos alimentos em produtos como carne, leite, lã, envolve a competência e a interação de variáveis biológicas, como o genótipo e o metabolismo, com a nutrição (RANGEL et al., 2008).

No ecossistema anaeróbio do rúmen, os microorganismos fermentam carboidratos e proteínas, oriundos da dieta, para obterem nutrientes necessários para seu crescimento, sendo muitos dos produtos finais dessa fermentação os ácidos graxos de cadeia curta (AGVs) e a proteína microbiana, que são as principais fontes de nutrientes (energia e proteína) (BRÜNING, 2013). Contudo, outros produtos resultantes da fermentação como calor, metano e amônia, possuem efeito oposto, ou seja, representam perda em energia e proteína do alimento para o meio ambiente (MORAIS et al., 2011). Representa ineficiência na utilização de energia pelo animal e poluição do ar pela excreção do metano, um gás altamente agressivo à camada de ozônio, sendo a produção de ruminantes responsável por 1/3 das emissões de metano no mundo, de acordo com a publicação "*Livestock's long shadow*" da FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2005.

A manipulação da fermentação ruminal, em termos simplificados, tem como principais objetivos: (1) melhorar os processos benéficos, (2) minimizar, deletar ou alterar os processos ineficientes, (3) minimizar, deletar ou alterar os processos prejudiciais para o animal hospedeiro (RIBEIRO JUNIOR et al., 2011). Exemplos de processos cuja maximização seria válida em todas as circunstâncias são degradação da fibra, fermentação do lactato e conversão de compostos nitrogenados não-protéicos em proteína microbiana, enquanto os processos que deveriam ser minimizados incluem a produção de metano, degradação da proteína e absorção da amônia (NAGARAJA et al., 1997).

Dentre os potenciais aditivos a serem empregados na alimentação, os mais difundidos são os ionóforos como a monensina sódica, lasalocida, narasina, salinomicina, tetranasina e avoparcina. Tais antibióticos carboxílicos poliésteres, inicialmente utilizados como coccidiostáticos para aves, a partir da década de 1970, passaram a ser inseridos na dieta de ruminantes. Os ionóforos deprimem ou inibem o crescimento de microorganismos do rúmen, são produtos da fermentação de diversas linhagens de *Streptomyces* e seu

mecanismo de ação básico é modificar o fluxo de transporte de íons através da membrana celular do microorganismo (RANGEL et al, 2008).

Apesar da proibição de alguns destes antibióticos pela EFSA, por meio de documento regulatório EC¹ nº1831/2003, em 2007 a União Européia estabeleceu limites máximos de resíduos (LMR), publicado na EC nº1353/2007, que possibilitam seu uso de forma controlada e segura. A monensina sódica possui LMR definido e no Brasil faz-se o acompanhamento de seus níveis na carne bovina pela efetivação do Programa Nacional de Controle de Resíduos (PNCR). Até o momento não foram detectados resíduos violativos.

Como alternativas ao uso dos antibióticos promotores de crescimento, evidenciam-se os probióticos ou aditivos microbianos (bactérias, enzimas exógenas, leveduras e fungos), os ácidos orgânicos (malato e fumarato) e os extratos de plantas (BERCHIELLI; BERTIPAGLIA, 2010).

Fuller (1989) definiu o termo probiótico como *"suplemento alimentar de microorganismos vivos que afetam benéficamente a flora ruminal pelo melhoramento do equilíbrio microbiano no intestino"*. Entretanto, por divergências entre pesquisadores, em 1989 a *Food and Drug Administration* (FDA), dos Estados Unidos, propôs aos fabricantes que utilizassem o termo aditivo microbiano (ou DMF, *direct feed microbial*), definindo-o como uma fonte de microorganismos viáveis que existem naturalmente.

Os probióticos não produzem resíduos nos produtos de origem animal e não desenvolvem resistência às drogas utilizadas em seres humanos, por serem essencialmente naturais (BERCHIELLI; BERTIPAGLIA, 2010). Os microorganismos mais comumente adicionados às dietas de ruminantes incluem as bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus* e

¹ European Parliament and Council Regulation (EC).

Bacillus; as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*; e os fungos *Aspergillus oryzae*.

Leveduras

O emprego de leveduras na dieta animal data de mais de 60 anos, o qual tem evoluído com os avanços tecnológicos e científicos (JORDAN; FOURDRAINE, 1993).

Em revisões realizadas por Wallace (1994) e Newbold (1997), constatou-se que as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) promovem o aumento no número de bactérias celulolíticas viáveis no rúmen, pela sua capacidade de remoção de oxigênio proveniente do alimento e da saliva. Assim, o pH do rúmen é preservado pelo efeito tampão das leveduras, a metanogênese e a proporção de AGVs são alteradas e a concentração de ácido láctico diminui. Essas mudanças elevam a taxa de digestão da celulose e o fluxo de proteína microbiana, o que resulta em maior ingestão de matéria seca e, portanto, em melhor desempenho (QUEIROZ et al., 2004).

Além desses efeitos, Greene (2002) durante estudos realizados no estado do Texas (EUA), observou que o uso de leveduras melhorou a utilização do cálcio e do fósforo na dieta. Porém, os resultados favoráveis ao uso de levedura não foram confirmados por Pereira et al (2001), em ensaios de digestibilidade com novilhos consumindo dietas à base de cana-de-açúcar, no Brasil, que concluíram que o uso de leveduras não influenciou o consumo e a digestibilidade.

De modo geral, ressalta-se que as respostas ao fornecimento de leveduras são inconstantes, podendo resultar de diversos fatores como composição da dieta, quantidade fornecida de levedura, procedência da levedura, e metodologia de aplicação. Dessa forma, são necessárias mais pesquisas que padronizem metodologias, análises para as diferentes categorias animais e aos diferentes níveis de composição e oferta das dietas.

Fungos

O fungo *Aspergillus sp.*, após fermentação por cultivo aeróbico, produz extrato constituído por grande variedade de enzimas, entre elas celulasas e hemicelulasas, que são outra opção de aditivo na manipulação ruminal (NEWBOLD et al., 1992).

Chang et al. (1999) observaram que o extrato de fermentação de *A. oryzae* teve efeito positivo sobre o crescimento e metabolismo do fungo ruminal *Neocallimastix frontalis* EB188, cujas secreções de celulase e de proteína aumentaram em até 41,0% e 38,0%, respectivamente, e o desenvolvimento de rizóide aumentou 3,8 vezes, em resposta dependente da quantidade do extrato. Os autores postularam que a presença de uma população de fungos mais ativa, com maior secreção de enzimas, promoveria maior contato dos fungos com componentes das plantas, resultando em maior infiltração dos rizóides dos fungos e consequente aceleração da invasão bacteriana oportunista.

Beharka e Nagaraja (1998) sugeriram que os efeitos positivos de extratos de *Aspergillus sp.* decorrem do fornecimento de fatores de crescimento para bactérias, como vitaminas (biotina, ácido pantotênico, hidrocloreto de piridoxina, vitamina B12), aminoácidos e ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada. Os autores acrescentam que a inclusão de *A. oryzae* no ambiente ruminal parece estabilizar o pH, o que pode ser especialmente benéfico em dietas ricas em grãos, nas quais o baixo pH pode levar à redução na ingestão de alimento e de ganho de peso.

Bactérias

O emprego de aditivos contendo células vivas de microorganismos e/ou seus metabólitos tem aumentado em resposta à demanda para o uso de substâncias “naturais” promotoras do crescimento que otimizem a eficiência da produção em ruminantes. Em teoria, a suplementação com microorganismos

benéficos espera prevenir o estabelecimento de microorganismos indesejáveis ou re-estabelecer a microflora normal do trato digestivo, procedimento denominado de "probióse" (REIS et al., 2006).

O exemplo de grande sucesso de manipulação da fermentação ruminal com a inoculação de bactérias é a inativação do 3-hidroxi-4(H)-piridona (DHP) pela bactéria *Synergistes jonesii*. A DHP é um aminoácido não-proteico presente na forrageira tropical *Leucaena leucocephala*, e quando consumida por animais não adaptados pode ocasionar efeitos tóxicos ao animal. A *S. jonesii* foi originalmente isolada em cabras do Havaí, adaptadas à forrageira tropical (JONES; MEGARRITY, 1986). Ao ser inoculada e estabelecida no rúmen de animais australianos conferiu proteção à toxicidade do DHP (ALLISON et al., 1990), comprovando a ação de detoxificação da *S. jonesii*.

Atualmente, o foco dos estudos da utilização deste tipo de aditivo não está na descoberta de seus efeitos e potenciais usos e, sim no desenvolvimento de programas de pesquisa voltados à manipulação do material genético de bactérias ruminais no sentido de aumentar a degradação de carboidratos estruturais.

O primeiro passo tem sido o desenvolvimento de um sistema de transferência de DNA em bactérias importantes na degradação de celulose como *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, e *Fibrobacter succinogenes*, além da clonagem de genes envolvidos na degradação de fibras (LANNA; MADEIRA, 1999).

Lanna e Silva Filho (2000) fizeram importante ressalva quanto à viabilização destas pesquisas e afirmaram que "*Estes programas de pesquisa vão enfrentar um grande número de dificuldades: (1) a necessidade de obter as bactérias transgênicas capazes de altas taxas de degradação de parede celular e (2) deve-se desenvolver a capacidade de introduzir e manter uma população numerosa deste organismo no complexo ecossistema ruminal*".

Russell e Wilson, em 1988, já previam tais dificuldades *"Estes OGM (organismos geneticamente modificados) teriam que competir com outros microorganismos bem como transferir substratos e metabólitos"*.

Os autores Lanna e Silva Filho (2000) completaram a ressalva acima afirmando que *"Apesar de alguns sucessos, a viabilidade destas técnicas deve ser questionada uma vez que existem importantes problemas ambientais em relação à liberação de bactérias transgênicas no rúmen. É difícil imaginar alguma possibilidade de controle e contenção, particularmente em função do alto nível de transferência genética no ecossistema ruminal"*.

Enzimas

Enzimas são proteínas globulares, de estrutura terciária e quaternária, que agem como catalisadores biológicos, aumentando a velocidade das reações químicas no organismo, sem sofrerem alterações durante o processo (CHAMPE; HARVEY, 1989). São altamente específicas para os substratos e conduzem todos os eventos metabólicos. As enzimas digestivas possuem um sítio ativo que permite com que elas atuem na ruptura de uma determinada ligação química (PENZ JÚNIOR, 1999), sob condições favoráveis de temperatura, pH e umidade.

Cereais e forrageiras são degradados no rúmen por uma mistura de microorganismos que possuem enzimas com capacidade de degradar a parede celular vegetal. São exemplos de enzimas as celulasas, xilanases, e uma quantidade de enzimas que degradam as ramificações de xilanas (CAMPESTRINI et al., 2005).

Ao considerar que nem todos os sítios ativos dos substratos disponíveis para a atuação das enzimas microbianas são ocupados, o aumento na concentração de enzimas poderia proporcionar aumento na taxa de digestão da parede celular no rúmen com o auxílio da atividade microbiana (DEHORITY; TIRABASSO, 1998). As porções mais facilmente digestíveis da fibra recebem

ação das bactérias *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *R. flavefasciens*. Já as porções menos digestíveis são de responsabilidade do *F. succinogenes* e de alguns fungos (NICODEMO, 2001).

O papel principal dos alimentos volumosos é o fornecimento de fibra, provedora de carboidrato que será usado como fonte de energia pelos microorganismos ruminais. Nas dietas para ruminantes exige-se uma quantidade mínima de fibra íntegra para que os processos mastigatórios, a produção de saliva e a ruminação sejam preservados, possibilitando o ideal funcionamento do rúmen.

Apesar da habilidade dos microorganismos ruminais na digestão da celulose e de outros carboidratos fibrosos, os fatores relacionados com as interações físico-químicas entre os constituintes da parede celular, particularmente as ligações entre a matriz de hemicelulose e lignina e os aspectos referentes ao animal, podem limitar a extensão da digestão no rúmen, pois representam uma barreira física aos processos fibrolíticos (MARTINS et al., 2008).

Visando potencializar a utilização dos alimentos fibrosos pelos ruminantes, pesquisas têm sido realizadas com o intuito de incrementar a digestibilidade da matéria seca (MS). Dessa forma, sugere-se a suplementação com enzimas fibrolíticas exógenas (celulase e hemicelulase), para aumentar suas concentrações endógenas no rúmen e intestino, a qual confere maior capacidade de degradação dos polissacarídeos fibrosos juntamente com as enzimas produzidas pelos microorganismos e estimula a digestão total e a taxa de degradação (NEWBOLD, 1997). As enzimas podem ser adicionadas em quantidades que variam de 0,01 a 1,0% da dieta e podem contribuir com até 15,0% da atividade fibrolítica total do rúmen (BEAUCHEMIN; RODE, 1996).

A biotecnologia moderna permite a produção industrial de enzimas específicas. Para utilização na alimentação animal, no final da década de 1980,

a produção de enzimas atingiu escala comercial, em especial na alimentação de monogástricos (aves e suínos), com elevação do valor nutritivo da dieta.

Estudos apontam que o uso de enzimas em forragens ensiladas como Alfafa (*Medicago sativa* L.) e *Phleum pratense* L., por exemplo, quando utilizadas no início do processo de ensilagem podem melhorar a fermentação dentro do silo, pois aumenta a degradação do tecido parenquimatoso, reduz as frações de FDN, FDA, hemicelulose e celulose (ISHIDA et al., 2001; ANIWARU et al., 2001).

Os produtos comerciais à base de enzimas são extratos da fermentação de bactérias (*Bacillus* sp.) ou fungos (*Trichoderma* e *Aspergillus* sp.), principalmente. Graminha et al. (2008) propuseram o emprego de resíduos agroindustriais após processo de fermentação em fase sólida (diferente do utilizado nas culturas de microorganismos) como substrato de cultivo, como uma nova alternativa para a produção de enzimas. Os autores citaram diversos trabalhos com resultados promissores ao utilizar essa técnica na extração de enzimas como pectinases, celulasas, xilanases, amilases e ligninases.

De acordo com Berchielli e Bertipaglia (2010) o método de aplicação das enzimas exógenas é uma área de estudo ativa. Procura-se determinar a efetividade dos produtos e a aplicação das enzimas horas antes do oferecimento, em forragem ou no concentrado, podendo influenciar a eficiência alimentar. As autoras frisam que a importância destes estudos coincide com o fato de que a forragem consumida pelos ruminantes caracteriza-se pela diversidade de origem e valor nutricional, utilizadas no estado *in natura* ou conservado, além da mistura com outros ingredientes em rações completas.

Efeitos das enzimas fibrolíticas sobre o desempenho animal

Resultados obtidos com a adição de enzimas fibrolíticas em dietas para ruminantes têm comprovado aumento na degradabilidade da MS e fibra em detergente neutro (FDN) (FENG et al., 1996), na produção de leite

(SCHINGOETHE et al., 1999) e no ganho de peso em bovinos (BEAUCHEMIN et al., 1995).

Em alguns ensaios, observou-se que as enzimas fibrolíticas poderiam alterar a utilização dos alimentos por meio de efeito direto sobre a fibra (FENG et al., 1996) ou pelo aumento da digestão ruminal e/ou pós-ruminal (HRISTOV et al., 2000), de modo sinérgico com os microorganismos do rúmen. McAllister et al. (2001) ressaltaram que de fato, estas formas de ação estão interligadas, de modo que as alterações mediadas pelas enzimas antes do consumo refletiriam nas digestões ruminal e pós-ruminal dos nutrientes.

Lewis et al. (1996) avaliaram diferentes métodos de aplicação das enzimas fibrolíticas em novilhos e não averiguaram efeito do fornecimento das enzimas via cânula ruminal, em comparação ao fornecimento direto na forragem, sobre as características digestivas. As enzimas poderiam ter sido digeridas ou estar suspensas na fase fluida do conteúdo ruminal, sendo eliminadas do rúmen antes de um contato suficiente com as partículas de alimento para hidrólise.

Degradabilidade e Parâmetros Ruminais

A aplicação de enzimas exógenas em rações concentradas para vacas leiteiras aumentou a eficiência alimentar em 6,0 a 12,0%, dependendo do nível de adição (KRAUSE et al., 1998; BEAUCHEMIN et al., 1999), este relacionado ao incremento na digestibilidade da dieta.

Segundo Ibáñez et al (2010), observou que a fração de FDA que foi adicionada enzimas fibrolíticas aumentou a degradação de *in vitro* da cana de açúcar, sendo possível melhorar o aproveitamento de dietas a base de cana de açúcar.

Martins et al. (2002) observaram que a resposta à suplementação da dieta de bovinos de corte à enzimas fibrolíticas foi dependente da fonte de

volumoso, sendo que quando o volumoso foi composto por feno de Tifton-85 (*Cynodon* sp.) a ação das enzimas foi mais eficiente do que na silagem de milho. A superioridade com o feno de Tifton-85 foi atribuída a maior proporção de parede celular presente na forragem comparada à silagem de milho (57,8% (40,3%), a qual disponibilizaria mais sítios ativos do substrato para a atuação das enzimas, o que reflete em resposta mais efetiva.

Os autores ainda constataram que apesar do consumo de MS e de FDN não ter aumentado, a digestibilidade da MS, matéria orgânica (MO), FDN e celulose aumentou em 6,1; 6,8; 24,5; 16,0%, respectivamente, quando as enzimas foram adicionadas ao feno, enquanto a adição na silagem de milho não gerou alterações significativas.

Martins et al. (2008) estudou o efeito da adição de enzimas fibrolíticas (celulose e xilanase) sobre a degradabilidade *in situ* da MS, proteína bruta entre outros parâmetros da silagem de milho e da palha de arroz, e concluiu que não houve efeito das enzimas sobre a degradação da parede celular dos volumosos

Produção de Leite

Lewis et al. (1999) impregnando a forragem com uma mistura de xilanases e celulasas (1ml/kg de MS total), obtiveram aumento de 6,3 kg/d (16,0%) na produção de vacas. No entanto, em níveis enzimáticos maiores e menores o mesmo produto não foi efetivo. Rode et al. (1999), ao adicionar enzimas à fração concentrada da dieta, verificaram aumento na produção de 3,6 kg/d (10,0%, $P<0,11$) de vacas em início de lactação. Yang et al. (1999) adicionaram enzimas a ração concentrada de vacas e encontraram maior produção de leite, 2,1 kg/d (5,9%).

Schingoethe et al. (1999) constataram aumento na produção de vacas leiteira (10,8%) e no teor de gordura e proteína do leite (20,0 e 13,0%, respectivamente) com a adição de enzimas fibrolíticas (celulase e xilanase) em dietas contendo silagem de milho.

Consumo e Ganho de Peso

Zheng et al. (1996) avaliaram novilhas alimentadas com silagem de capim e 10,0% de concentrado e não obtiveram respostas ao fornecimento de enzimas (celulase + xilanase) sobre o consumo de MS e ganho de peso. Contudo, Pritchard et al. (1996) relataram a elevação no consumo de MS no ganho de peso e na eficiência alimentar, em resposta a níveis crescentes de fornecimento de enzimas (celulase + xilanase) para novilhos recebendo 30,0% de concentrado.

McAllister et al. (2001), ao analisar o desempenho de novilhos em confinamento, atingiram aumentos de 5,99 kg/dia para 6,72 kg/dia na ingestão de MS e de 0,94 kg/dia para 1,16 kg/dia no ganho médio diário com a suplementação enzimática (celulase e xilanase).

Queiroz et al (2004), em ensaio realizado com novilhos de corte, também em sistema de confinamento, observaram que a quantidade de enzima fornecida (xilanase, 5 ou 10 g/dia) não afetou ($P>0.05$) os parâmetros de desempenho. Os autores sugerem que o fornecimento da enzima melhorou o ganho médio diário (GMD) e o consumo de matéria seca (CMS) em 5,2 e 4,0%, respectivamente, os quais podem estar relacionados ao fornecimento conjunto com levedura.

Weichenthal et al. (1998) substituíram o antibiótico Rumensin®-Tylan®² por um coquetel de enzimas extraídas de bactérias, fungos e leveduras na dieta composta por 88,0% de concentrado, para bovinos em fase de terminação e verificaram que o ganho diário e a conversão alimentar foram favoráveis ao uso de enzimas em 10,0 e 7,5%, respectivamente, sem alteração no consumo de MS, isso indica que o uso de enzimas pode ser mais efetivo que o de antibióticos.

² Rumensin ® e Tylan ®, Elanco Animal Health. Indianapolis, IN-EUA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de aditivos alimentares na nutrição de ruminantes, no intuito de melhorar a eficiência de produção e reduzir perdas de nutrientes pelo estímulo do metabolismo energético, pode ser considerada como alternativa segura e eficaz. Os aditivos enzimáticos, juntamente com os demais tipos de aditivos, são potenciais substitutos aos antibióticos e aos promotores de crescimento.

De acordo com a literatura consultada, o uso de enzimas fibrolíticas exógenas apresenta-se como ferramenta estratégica na alimentação de ruminantes. Porém, a grande variabilidade das respostas obtidas até o momento é resultante de ampla diversidade de produtos comerciais disponíveis, que variam com o tipo de enzima contida no produto, a fonte dessa enzima, método de aplicação na dieta, quantidade de inclusão e atividade da enzima.

Assim, uma padronização na produção dessas enzimas e na metodologia de fornecimento é necessária para que os resultados possam ser extrapolados dos experimentos para o campo.

REFERÊNCIAS

ALLISON, M. J. et al. Detection of rumen bacteria that degrade toxic dihydroxypridine compounds produced from mimosine. **Applied Microbiology**, v.56, p.590-594, 1990.

ANIWARU, A.; ISHIDA, T.; WATANABE, T. et al. The effect of cellulase on cell wall structure and the rumen digestion of timothy silage. In: International Grassland Congress, 19. São Pedro. **Anais...** Manaus: Sonopress, 2001. CD-ROM. Forage Conservation. Papers, 21-16.

BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L. M. The potential use of feed enzymes for ruminants. In: Cornell Nutrition Conference For Feed Manufacturers. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, v.58. p.131-141, 1996.

BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; SEWALT, J.H. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, v.75, p.641-644, 1995.

BEAUCHEMIN, K.A.; YANG, W.Z.; RODE, L.M. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.378-390, 1999.

BEHARKA, A. A.; NAGARAJA, T. G. Effect of *Aspergillus oryzae* extract alone or in combination with antimicrobial compounds on ruminal bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 6, p. 1591-1598, 1998.

BERCHIELLI, T.T.; BERTIPAGLIA, L.M.A. Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. In: PIRES, A. V. (Ed). **Bovinocultura de Corte**. Piracicaba: FEALQ, v.1, p. 295-330, 2010.

BRASIL. Portaria SDA nº 13, de 30 de novembro de 2004, aprova o **Regulamento Técnico sobre Aditivos para Produtos destinados à Alimentação Animal**.

BRÜNING, G. **Adição de virginiamicina em suplemento mineral e proteinado para bezerras Nelore em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu na transição seca-águas**. 75 f. Tese (Dourado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

CAMPESTRINI, E.; DA SILVA, V.T.M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.259-272, 2005.

CHAMPE; P.C.; HARVEY, R.A. **Enzimas**. In: Bioquímica Ilustrada, 2 ed. São Paulo: Artes Médicas. 446p. p.53-66, 1989.

CHANG, J. S.; HARPER, E. M.; CALZA, R. E. Fermentation extract effects on the morphology and metabolism of the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. **Journal of Applied Microbiology**, Danvers, v. 86, n. 3, p. 389-398, 1999.

COUSINS, B. Enzimas na nutrição de aves. In: Simpósio Internacional ACAV – Embrapa sobre Nutrição de Aves, Concórdia – SC. **Anais...** Concórdia: p. 15 1999.

DEHORITY, B.A.; TIRABASSO, P.A. Effect of ruminal cellulolytic bacterial concentrations on in situ digestion of forage cellulose. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2905-2911, 1998.

FENG, P.; HUNT, C.W.; PRITCHARD, G. T. 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. **Journal of Animal Science**, v.74, p.1349-1357, 1996.

FULLER, R. A Review: Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, 66-335, 1989.

GRAMINHA, E.B.N.; GONÇALVES, R.D.P.B.; PIROTA, M.A.A. et al. Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.144, p. 1-22, 2008.

GREENE, W. Use of *Saccharomyces cerevisiae* in beef cattle. In: Simpósio Goiano Sobre Manejo e Nutrição de Bovinos de Corte, 4. Goiânia. **Anais...** Goiânia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p. 79-96, 2002.

HRISTOV, A.N.; McALLISTER, T.A.; CHENG, K.-J. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: effects on nutrient digestion in cattle feed barley grain diets. **Journal of Animal Science**, v.78, p.477-487, 2000.

IBÁÑEZ, E. M. A.; MARTÍNEZ, G.D.M.; JUÁREZ, J.A.R. et al. Efeito de enzimas fibrolíticas sobre a degradação microbiana ruminal da fibra de cana-de-açúcar. **Ci. Anim Bras.** Goiânia, v. 11, n. 3, p. 488-495, 2010.

ISHIDA, T.; AISAN, A.; TOMIYAMA, K. et al. The effect of cellulase on cell wall structure and the rumen digestion of alfalfa silage. In: International Grassland Congress, 19, São Pedro. **Anais...** Manaus: Sonopress, 2001. CDRom. Forage Conservation. Papers, ID 21-17.

JONES, R. J.; MEGARRITY, R. G. Successful transfer of DHP-degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. **Australian Veterinary Journal**, v.63, p.259-262, 1986.

JORDAN, E.R.; FOURDRAINE, R.H. Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. **Journal of Dairy Science**, 79-2279, 1993.

KRAUSE, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. et al. Fibrolytic enzyme treatment of barley grain and source of forage in highgrain diets fed to growing cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2912-2920, 1998.

LANNA, D.P.D.; MADEIRA, H.M. **A Nutrição da Vaca de Leite no Século XXI**. II Simpósio Nacional de Buiatria. Editor: Maristela Pituco. São Paulo,SP. 23 p, 1999.

LANNA, D.P.D.; SILVA FILHO, M.C. Biotecnologias aplicáveis à produção de bovinos de corte no Brasil. In: II Simpósio de Produção de Gado de Corte. 2000. Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV. p.259-376, 2000.

LEWIS, G.E.; HUNT, C.W.; SANCHEZ, W.K. et al. Effect of directfed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3020-3028, 1996.

LEWIS, G.E.; HUNT, C.W.; SANCHEZ, W.K. et al. Effect of directfed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.611-617, 1999.

LOYOLA, V.R.; PAULE, B.J.A. Utilização de aditivos em rações de bovinos: aspectos regulatórios e de segurança alimentar. In: VIII Simpósio sobre Nutrição de Bovinos. Minerais e Aditivos para Bovinos; **Anais...** Edição: BITTAR, C.M. et al. Piracicaba: FEALQ, 2006. p.213-223.

MARTINS, A. S.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T. et al. Degradação ruminal da silagem de milho e da palha de arroz utilizando enzimas fibrolíticas exógenas. **Acta Sci. Anim. Sci.** v. 30, n. 4, p. 435-442, 2008.

MARTINS, A.S.; BERCHIELLI, P.F.V.; PRADO, I.N; Efeito da adição de enzimas fibrolíticas à ração sobre os parâmetros ruminais em bovinos alimentados com silagem de milho e feno de Tifton 85. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39. Recife. **Anais...** Caucaia: CD+, 2002, CD-ROM. Nutrição de ruminantes.

McALLISTER, T.A.; HRISTOV, A.N.; BEAUCHEMIN, K.A. et al. Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M.R., PARTRIDGE, G.G. (Eds.). **Enzymes in farm nutrition**. Oxon: Cab International. p.273-298, 2001.

MORAIS, J.A.S., et al. Aditivos. In: **NUTRIÇÃO DE RUMINANTES**. BERCHIELLI, T. T. et al. Jaboticabal, 2ª Ed. p. 565-599, 2011.

NAGARAJA, T.G. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). The Rumen Microbial Ecosystem. Blackio Academic & professiol, 523-632, 1997.

NEWBOLD, C.J.; FRUMHOLTZ, P.P.; WALLACE, R.J. Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on rumen fermentation and blood constituents in sheep given diets of grass hay and barley. **Journal of Agricultural Science**, v.119, p.423-427, 1992.

NEWBOLD, J. Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation. In: Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville. **Proceedings...** University of Florida, Gainesville, January, 16-17, 1997.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. In: Documentos / Embrapa Gado de Corte. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. 54 p. ISSN 1517-3747; 106, 2001.

PENZ JÚNIOR, A.M. Enzima em rações para aves e suínos. In: XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Botucatu-SP. **Anais...** Botucatu: 1999. p. 165-178.

PEREIRA, E.S.; QUEIROZ, A.G.; PAULINO, M.F. et al. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p. 563-572, 2001.

PRITCHARD, G.; HUNT, C.; ALLEN, A. et al. Effect of direct - fed fibrolytic enzymes on digestion and growth performance in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, Sup. 1, p.296, Abst. 756, 1996.

QUEIROZ, R.C.; BERGAMASCHIME, A.F.; BASTOS, J.F.P. et al. Uso de produto à base de enzima e levedura na dieta de bovinos: digestibilidade dos nutriente e desempenho em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1548-1556, 2004.

RANGEL, A.H.N.; LEONEL, F.P.; SIMPLÍCIO, A.A. et al. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.8, n.2, p.173-182, 2008.

REIS, R.A.; MORAIS, J.A.S.; SIQUEIRA, G.R. Aditivos alternativos para alimentação de ruminantes. In: II Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal (II CLANA). **Anais...** São Paulo: CBNA-AMENA. p. 40, 2006.

RIBEIRO JUNIOR, C.S.; SALCEDO, Y.T.G.; AZEVEDO, R.A. et al. Uso de aditivos naturais e fitocompostos na manipulação do ambiente ruminal. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 13, p. 977, 2011.

RODE, L.M.; YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A. Fibrolytic enzyme supplemented for dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2121-2126, 1999.

RUSSELL, J. B.; WILSON, D. B. Potential opportunities and problems for genetically altered rumen microorganisms. **Journal of Nutrition**, 118: 271-279, 1988.

SCHINGOETHE, D.J.; STEGEMAN, G.A.; TREACHER, R.J. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forage at the time of feeding. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.996-1003, 1999.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2.ed. Ithaca:Comstock Publication Association, p. 476, 1994.

WALLACE, R. J. Ruminant microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 11, p. 2992-3003, 1994.

WEICHENTHAL, A.; RUSH, I.G.; Van PELT, B.G. An enzyme – microbial feed product for finishing steers. **Nebraska Beef Report**. University of Nebraska, Animal Science Department. Lincon. p. 55-58, 1998.

YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.2, p.391-403, 1999.

ZHENG, S.; STOKES, M.R.; HOMOLA, A. Effects of fibrolytic enzymes on digesta kinetics and growth of heifers. **Journal of Dairy Science**, v.79, Sup. 1, p.235, Abst. 7, 1996.