



Uso de enzima amilolítica associada a enzimas proteolíticas e fibrolíticas na dieta para ovinos. Use of amylolytic enzyme associated with proteolytic and fibrolytic enzymes in the diet for sheep.

[Gustavo Roberto Dias Rodrigues](#)¹, [Marco Túlio Santos Siqueira](#)², [Thamiris Oliveira Dutra](#)¹, [Érica Beatriz Schultz](#)³, [Luciano Fernandes Sousa](#)⁴, [Gilberto de Lima Macedo Júnior](#)⁵

¹ Discente do curso de Zootecnia - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia/MG.

² Discente da pós-graduação em Zootecnia - Departamento de Zootecnia - Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras/MG. E-mail: marcotulio.s.siqueira@gmail.com

³ Docente do curso de Zootecnia - Departamento de Zootecnia - Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa/MG.

⁴ Docente do curso de Zootecnia - Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal do Tocantins - UFT, Araguaína/TO.

⁵ Docente do curso de Zootecnia - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia/MG.

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito de enzimas sobre o consumo, digestibilidade da matéria seca e nutrientes e metabólitos sanguíneos. Utilizou-se 16 cordeiras com idade e peso médios de 3 meses e 19,00 kg, respectivamente. Os tratamentos consistiram na utilização de enzimas amilolítica, proteolítica e fibrolítica. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado. Não foram obtidas diferenças estatísticas ($P>0,05$) para consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes. Houve diferença estatística ($P<0,05$) para a variável ureia, onde o tratamento Amaize® e Amaize® + Fibrozyme® mostraram-se superiores aos demais. Conclui-se que a inclusão de enzimas amilolíticas associadas à proteolíticas e fibrolíticas não causa quaisquer efeitos deletérios aos animais, podendo ser adicionadas à ração de cordeiros.

Palavras-chave: Amaize®. Allzyme®. Digestibilidade. Fibrozyme®. *Ovis aries*.

Abstract

The objective was to evaluate the effect of enzymes on consumption, digestion of dry matter and blood nutrients and metabolites. Sixteen lambs with an average age and weight of 3 months and 19.00 kg, respectively, were used. Treatments consist of the use of amylolytic, proteolytic and fibrolytic enzymes. A completely randomized design was used. No differences ($P>0.05$) were found for intake and digestion of dry matter and nutrients. There was a statistical difference ($P<0.05$) for the urea variable, where treatment Amaize® and Amaize® + Fibrozyme® were thought to be superior to the others. It can be concluded that the inclusion of amylolytic enzymes associated with proteolytic enzymes does not cause any effects to the animals, and deleterious effects can be added to the feed of lambs.

Keywords: Amaize®. Allzyme®. Digestibility. Fibrozyme®. *Ovis aries*.

Introdução

A demanda por produtos de origem animal cresce em nível exponencial, o que evidencia a importância da utilização de novas estratégias ou tecnologias a fim de ampliar os níveis produtivos dos animais domésticos (SUJANI e SERESINHE, 2015). Com isso, na tentativa de aumentar tais índices, diversos pesquisadores ao redor do mundo vêm testando novas técnicas, sendo uma delas a implementação de enzimas exógenas como aditivos na nutrição animal. Os efeitos dessa biotecnologia visam promover melhorias nos parâmetros da cinética ruminal, na digestibilidade dos nutrientes (YANG et al., 2011) e permitem a alteração dos produtos resultantes da fermentação, sem modificar a composição da dieta ofertada. Tais variações podem ser proporcionadas por causa de diferentes processos bioquímicos, sendo por meio das diferenças nas atividades enzimáticas, taxa e composição do produto, modo e tempo de contato enzimático, atividade ruminal e a especificidade enzima substrato (ADESOGAN, 2014).

As enzimas correspondem a proteínas específicas que atuam na forma de catalisadores biológicos de reações, portanto, são estruturas com a capacidade de acelerar reações químicas. Cada enzima atua em um sítio específico, de forma que sua nomenclatura está diretamente relacionada ao mesmo (YANG et al., 2011).

As enzimas amilolíticas são as amilases responsáveis por catalisar a hidrólise nas ligações glicosídicas de polissacarídeos como amido e glicogênio, sendo estes quebrados em subprodutos de pequenos polímeros de glicose. São divididas em três tipos, as α -amilases, β -amilases e glucoamilases, onde a primeira promove a hidrólise no interior do substrato, enquanto as outras causam a hidrólise na extremidade do mesmo. Dessa forma, assim que ocorre aumento na degradação e oferta de nutrientes pelas amilases, constata-se aumento no número de açúcares, o que promove desenvolvimento e ampliação do número de microrganismos ruminais, potencializando o poder digestivo do amido no ambiente ruminal (YANG et al., 2011).

Já as proteolíticas são as que atuam na hidrólise das ligações peptídicas dos aminoácidos, digerindo a matriz proteica e expondo os nutrientes, a fim de que ocorra digestão microbiana. Diversos itens podem alterar a taxa de degradação proteica 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 (NEIVA, 2018).

Para ruminantes, as enzimas fibrolíticas são as mais visadas nas pesquisas científicas, pois há a intenção de que com esse produto, ocorra a redução da fração fibrosa dos alimentos e conseqüentemente, aumento da digestibilidade desta parcela no rúmen, proporcionando elevação da disponibilidade de energia das forragens aos ruminantes (FREITAS et al., 2018). O uso desse aditivo visa disponibilizar carboidratos solúveis vindos da hidrólise de paredes celulares e ampliar a eficiência das forragens na produção de ruminantes (NEIVA, 2018).

Freitas et al. (2018) ao avaliar o efeito de enzimas amilolíticas na digestibilidade *in vitro* de milho (DIVMS) obteve diferenças estatísticas ($P < 0,05$), onde o tratamento de 10mL dessas enzimas provocou melhora de 55,54% na DIVMS se comparado ao grupo controle (sem adição enzimática). Entretanto, já Zilio et al. (2019) ao avaliar o efeito de enzimas fibrolíticas e amilolíticas na digestibilidade aparente, fermentação ruminal e desempenho de vacas leiteiras, não observou diferenças ($P > 0,05$) para os três tratamentos que continham enzimas, sendo o primeiro composto pelas amilolíticas, outro pelas fibrolíticas e o último pela junção desses dois tipos de complexos enzimáticos.

A hipótese desse projeto se fundamenta na possibilidade da associação entre as enzimas amilolíticas, proteolíticas e fibrolíticas conseguirem melhorar a digestibilidade dos nutrientes, consumo e parâmetros metabólicos. Sendo assim, o objetivo desse ensaio é avaliar o efeito de enzimas amilolíticas associadas com proteolíticas e fibrolíticas no consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes; metabólitos proteicos, energéticos e enzimas hepáticas de cordeiras.

Metodologia

O ensaio experimental ocorreu em fase única, no setor de pequenos ruminantes da fazenda Capim Branco pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU), com vinte dias de duração, onde quinze dias foram destinados à adaptação dos animais à dieta e cinco dias para coletas de dados.

Foram utilizadas dezesseis cordeiras Dorper x Santa Inês com peso e idade médios iniciais de 19,00kg e três meses respectivamente, onde cada animal representou uma unidade experimental. Previamente ao início do experimento, os animais foram vermifugados com Zolvix[®] na dose de 2,5 mg de Monepantel por kg de peso vivo e sorteados entre os grupos experimentais. Para a realização do experimento, as cordeiras foram distribuídas em gaiolas metabólicas previamente identificadas para cada unidade e seu respectivo tratamento, sendo as mesmas compostas por bebedouro, cocho e saleiro, de acordo com padrão do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência animal (INCT-CA). Todos os procedimentos utilizados estão registrados na Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia sob protocolo nº 092/17.

Na tabela 1 apresenta-se a composição das enzimas exógenas avaliadas, segundo informações disponibilizadas pelo fabricante.

Tabela 1 - Composição das enzimas utilizadas de acordo com informações do fabricante

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

*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; ** 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; *** 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 foram compostos pela associação entre enzimas amilolíticas com fibrolíticas e proteolíticas, sendo eles: Controle (sem adição enzimática), Amaize[®] (enzima amilolítica) (Alltech[®], Maringá, Paraná, Brasil), Amaize[®] + Allzyme[®] (enzima amilolítica + proteolítica) (Alltech[®], Maringá, Paraná, Brasil) e Amaize[®] + Fibrozyme[®] (enzima amilolítica + fibrolítica) (Alltech[®], Maringá, Paraná, Brasil). As dosagens em que as enzimas foram ofertadas seguiram recomendações disponibilizadas pelo fabricante, sendo inclusas na composição do concentrado experimental, de acordo com a tabela 2.

Tabela 2 - Composição percentual dos concentrados experimentais (%)

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	Amaize [®]	Amaize [®] + Allzyme [®]	Amaize [®] + Fibrozyme [®]
Farelo de Milho	60,00	60,00	60,00	60,00
Farelo de Soja	36,00	36,00	36,00	36,00
Sal Mineral	3,00	3,00	3,00	3,00
Ureia	1,00	1,00	1,00	1,00
Adsorvente	0,10	0,10	0,10	0,10
Enzima amilolítica	-	0,09	0,09	0,09
Enzima proteolítica	-	-	0,09	-
Enzima fibrolítica	-	-	-	0,08

A alimentação diária foi dividida em dois horários, às 8:00 e às 16:00, sendo que em cada um desses horários foi ofertado 50% do total no dia. A dieta teve em sua composição 30,0% de silagem de milho e 70,0% de concentrado, sendo balanceada de acordo com o Nacional Research Council – NRC (2007) para ganhos de 300g dia⁻¹ e de modo com que houvesse sobras entre 5% e 10% do total ofertado diariamente. As refeições foram pesadas durante todos os vinte dias do experimento utilizando uma balança eletrônica com precisão de cinco gramas. Na tabela 3 encontra-se a composição bromatológica dos concentrados experimentais e da silagem de milho utilizada nesse estudo.

Tabela 3 - Constituintes alimentares da silagem de milho, concentrados experimentais e dieta total fornecida

	Alimentos			
	MS	PB	FDN	FDA
Concentrado Controle	86,64	23,78	38,49	12,31
Concentrado Amaize [®]	87,47	24,15	40,40	12,62
Concentrado Amaize [®] + Allzyme [®]	85,34	22,87	37,78	13,40
Concentrado Amaize [®] + Fibrozyme [®]	85,82	23,42	37,29	13,39
Silagem de milho	28,13	8,29	53,82	38,62
	Dietas			
Tratamento	MS	PB	FDN	FDA
Controle	69,09	19,14	43,09	20,04
Amaize [®]	69,67	19,39	44,43	20,25
Amaize [®] + Allzyme [®]	68,18	18,50	42,59	20,80
Amaize [®] + Fibrozyme [®]	68,51	18,88	44,25	20,79

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; Valores obtidos através de análises bromatológicas efetuadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Uberlândia.

Após os quinze dias de adaptação, ocorreram as coletas de dados. Durante todos os dias de coletas, foram recolhidas as sobras e fezes de cada animal, onde após o final desse período, formaram-se amostras compostas para realização das análises bromatológicas e cálculo do consumo e digestibilidade da matéria seca e demais nutrientes. Todas as amostras foram armazenadas em freezers horizontais a -15°C para conservação dos nutrientes. Em seguida, foi realizada a pré-secagem dessas amostras em estufa de circulação forçada de ar a 55°C durante 72 horas. Posteriormente, as amostras foram moídas em um moinho de facas do tipo Willey em partículas de 1mm. Após a moagem, as amostras foram levadas ao Laboratório de Nutrição Animal (LABAN) da UFU onde foi feita a determinação da matéria seca das amostras de sobras e fezes, em estufa a 105°C durante 24 horas, sendo possível calcular a matéria seca definitiva e teor dos nutrientes, e por fim, a

digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes através das equações propostas (eq. 1 e eq. 2) por Maynard et al. (1984):

$$CN = (\text{Cons} \times \% \text{Cons}) - (\text{Sob} \times \% \text{Sob}) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$DA = \frac{CN - (\text{Fez} \times \% \text{Fez})}{CN} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

De forma que 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 (%).

Os nutrientes analisados foram: proteína bruta (PB; método INCT-CA N-001/1), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN; método INCT-CA F-001/1) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA; método INCT-CA F-004/1). As metodologias utilizadas foram de acordo com o descrito por Detmann, Souza & Valadares Filho (2012).

Através dos teores dos nutrientes, foi possível calcular o consumo de proteína bruta (CPB), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de fibra em detergente ácido (CFDA) e consumo de matéria seca (CMS), através da diferença entre ofertado e sobras. Também foi calculado o consumo de hemicelulose (CHEMI) através da diferença entre os teores de FDA e FDN.

As coletas de sangue para avaliação dos componentes bioquímicos também foram realizadas após os quinze dias do período de adaptação dos animais, sendo feitas no primeiro, terceiro e quinto dia de coleta do experimento, antes da primeira refeição ofertada no dia com os animais em jejum desde a última refeição disponibilizada no dia anterior. Considerou-se a média desses três dias para realização dos cálculos estatísticos. As colheitas de sangue ocorreram por venopunção da jugular com tubos Vacutainer[®] (BD) sem anticoagulante. Os componentes bioquímicos avaliados para determinação do metabolismo energético foram: triglicerídeos, colesterol e frutossamina; para determinação do metabolismo proteico foram: ureia, proteínas totais, ácido úrico, albumina e creatinina; para determinação do metabolismo hepático foram: fosfatase alcalina (ALP), aspartato aminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT).

Já para a avaliação glicêmica, as colheitas foram realizadas no quinto dia de coleta de dados, às 8:00 (antes da primeira refeição), 11:00, 14:00, 17:00 e 20:00 horas. Excepcionalmente nesse dia, a segunda refeição somente foi ofertada após o recolhimento das 20:00 horas. Essas amostras foram coletadas por meio de venopunção da jugular com a utilização de tubos Vacutainer[®] (BD) contendo fluoreto de sódio e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), identificados para cada animal. Não foram mensurados os efeitos do estresse da coleta a cada três horas nos animais.

Todas as amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 3000 rotações por minuto, durante 10 minutos. Após a separação do soro em alíquotas, estes ficaram armazenados em freezer à -15°C para futuras análises laboratoriais. As amostras foram processadas em analisador bioquímico automatizado Bioplus[®] 2000 (Bioplus Produtos para Laboratório Ltda.), usando kit comercial da Lab Test Diagnósticos S. A.[®].

O ensaio experimental foi conduzido na forma de delineamento inteiramente casualizado (DIC), possuindo quatro tratamentos. Os grupos controle, Amaize[®] e Amaize[®] + Fibrozyme[®] foram compostos por quatro repetições e o grupo Amaize[®] + Allzyme[®] por três devido à morte de um dos animais por motivos não ligados ao estudo. Já para glicemia considerou-se delineamento inteiramente

ao acaso com parcela subdividida, onde nas parcelas ficaram os tratamentos e nas sub parcelas os horários de coleta. Os dados foram avaliados quanto à normalidade (testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade das variâncias dos tratamentos (teste de Bartlett). Em seguida, como todas as variáveis quantitativas atenderam a esses pressupostos, foi realizada a análise de variância e posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) ao nível de 5% de significância de probabilidade ($P < 0,05$). Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas) versão 9.0.

Resultados e discussão

Na tabela 4 estão dispostos os resultados referentes ao consumo dos animais da matéria seca e nutrientes, sendo possível observar que não houve diferença estatística ($P > 0,05$) para as variáveis em estudo. O consumo da matéria seca (CMS) médio foi de $0,687 \text{ Kg dia}^{-1}$, estando dentro da faixa de recomendação para a categoria animal avaliada de $0,5 - 0,8 \text{ kg dia}^{-1}$ (NRC, 2007). Contudo, o CMS em relação ao peso corporal (CMSPC) apresentou-se 17,33% acima da indicação do NRC (2007) de 3% PC, uma vez que foi obtida média geral de 3,52% para essa resposta.

Esses valores podem ser atribuídos à relação concentrado:volumoso de 70C:30V ofertada e qualidade dos ingredientes que compõem o concentrado, uma vez que foi distribuído em maior proporção um alimento que continha mais proteína bruta em sua composição, contribuindo para uma dieta (média dos quatro tratamentos) com 18,98% de PB (Tabela 3) que apresenta potencial para elevar o CMS. Além disso, havia menor oferta de volumoso, o que provoca maior consumo para que o enchimento ruminal seja atingindo.

Tabela 4 - Consumo de constituintes alimentares dos grupos experimentais

Tratamento	CMS	CMSPC	CMSPM	CPB	CFDN	CFDA	CHEM
Controle	0,705	3,37	71,72	0,188	0,407	0,105	0,300
Amaize [®]	0,702	3,62	75,52	0,188	0,444	0,104	0,312
Amaize [®] + Allzyme [®]	0,668	3,64	75,50	0,178	0,389	0,105	0,283
Amaize [®] + Fibrozyme [®]	0,668	3,47	72,44	0,181	0,387	0,109	0,278
P-valor	0,9933	0,8338	0,9589	0,9957	0,9153	0,9983	0,9665
MG	0,687	3,52	73,68	0,184	0,408	0,106	0,294
CV	34,44	12,97	16,68	33,70	31,01	30,60	35,41

CMS: Consumo da matéria seca (Kg dia^{-1}); CMSPC: Consumo da matéria seca pelo peso corporal (%PC); CMSPM: Consumo da matéria seca pelo peso metabólico ($\text{PC}^{0,75}$); CPB: Consumo de proteína bruta (Kg dia^{-1}); CFDN: Consumo de fibra em detergente neutro (Kg dia^{-1}); CFDA: Consumo de fibra em detergente ácido (Kg dia^{-1}); CHEM: Consumo de hemicelulose (Kg dia^{-1}); P-valor: probabilidade de significância (5%); MG: média geral; CV: coeficiente de variação (%).

No trabalho de Neiva (2018) foram obtidas médias de $0,953 \text{ kg dia}^{-1}$ e 2,35% para CMS e CMSPC, respectivamente, para borregas com idade de 6 meses alimentadas com enzimas exógenas na ração. Já Siqueira et al. (2020) averiguou CMSPC de 3,46% para borregas de 7 meses de idade consumindo um mix enzimático (enzima amilolítica + fibrolítica + proteolítica).

Com relação ao consumo de proteína bruta (CPB), os grupos obtiveram média geral de $0,184 \text{ kg dia}^{-1}$ e encontram-se ligeiramente acima da faixa de recomendação do NRC (2007) de $0,157-0,181 \text{ kg dia}^{-1}$ para cordeiros entre 10-20 kg de peso vivo. Esse resultado pode ser associado ao maior CMSPC apresentado pelos animais e pela natureza da dieta ofertada que continha 36% de farelo de soja em sua composição (Tabela 2) e conseqüentemente, 18,98% de PB (média dos quatro

tratamentos) em sua composição (Tabela 3). Cirne et al. (2013) avaliando índices de proteína na dieta para cordeiros averiguou que a inclusão de até 20% de proteína bruta na dieta não afeta o desempenho de cordeiros com 6 meses de idade em confinamento, sendo obtido CMS e CPB de 1,002 e 0,196 kg dia⁻¹, respectivamente.

O consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de fibra em detergente ácido (CFDA) e consumo de hemicelulose (CHEMI) mantiveram-se constantes para os animais durante o ensaio. De acordo com Cannas et al. (2004), a exigência mínima de níveis de fibra em detergente neutro (FDN) para dietas de ovinos deve ser entre 20 e 24,5%, uma vez que a falta desse composto para esses animais afeta a fermentação e síntese de proteína microbiana ruminal de forma negativa, entretanto, dietas com elevada concentração de fibra possuem baixa densidade energética e reduzem a performance animal por meio da limitação da ingestão devido ao enchimento do rúmen. Kozloski et al. (2006) obteve CFDN de 417 g dia⁻¹ para cordeiros alimentados com silagem de sorgo contendo 56,2% de FDN em sua composição bromatológica.

Tanto o CFDN e CFDA apresentaram o mesmo comportamento, sendo possível relacioná-los a composição da dieta (Tabela 3) que teve apenas 30% de silagem de milho, fornecendo menores quantidades de FDN e FDA através da dieta aos animais. Como a ração ofertada apresentava maior proporção de grãos e baixa quantidade de volumoso, o CFDN e CFDA não apresentaram valores elevados. Esses resultados podem ser associados ao CMS, uma vez que ele não foi limitado pela ingestão de fibra dos animais, indicando que o consumo dessas frações fibrosas não comprometeu a ingestão de alimentos dos grupos avaliados nesse ensaio.

Para melhores inferências acerca do consumo das dietas e efeito das enzimas sobre a degradação da matéria seca e nutrientes, foram determinadas a digestibilidade dos mesmos, de acordo com a tabela 5. Foi possível verificar que não houve diferenças estatísticas ($P > 0,05$) para as variáveis digestibilidade da matéria seca (DMS), digestibilidade da proteína bruta (DPB), digestibilidade da fibra em detergente neutro (DFDN) e digestibilidade da hemicelulose (DHEMI). A não significância para as variáveis mencionadas pode estar relacionada a diversos fatores, como a quantidade de enzimas fornecidas, estabilidade da enzima no ambiente ruminal, tempo necessário para ação das enzimas no substrato correspondente, pH e temperatura do ambiente ruminal e competição por sítios de ligação com enzimas microbianas (BEAUCHEMIN et al., 2004). Além disso, há também a possibilidade de o tempo de estudo ter contribuído para não diferença estatística entre os tratamentos, visto que esse ensaio durou apenas 20 dias e alguns outros trabalhos mostram que o surgimento de efeitos acontece com maior tempo em uso.

Tabela 5 - Digestibilidade dos constituintes alimentares dos grupos experimentais

Tratamento	DMS	DPB	DFDN
Controle	77,32	78,52	73,15
Amaize [®]	79,40	82,07	74,15
Amaize [®] + Allzyme [®]	80,18	74,85	70,60
Amaize [®] + Fibrozyme [®]	76,02	85,66	72,49
P-valor	0,5850	0,1765	0,9375
MG	78,10	80,64	72,73
CV	5,66	7,69	10,31

DMS: Digestibilidade da matéria seca (%); DPB: Digestibilidade da proteína bruta (%); DFDN: Digestibilidade da fibra em detergente neutro (%); P-valor: probabilidade de significância (5%); MG: média geral; CV: coeficiente de variação (%).

A média da DMS para os grupos foi de 78,10%, fato que pode ser correlacionado com a composição e natureza da dieta ofertada, uma vez que a ração ofertada aos animais foi composta por mais concentrado do que silagem de milho (relação 70C:30V), houve maior distribuição de carboidratos não fibrosos (CNFs) do que FDN, fato que eleva a digestibilidade dos seus nutrientes devido à rápida fermentação dos CNFs no rúmen (FREITAS et al., 2018). Além disso, os componentes do concentrado ofertado estavam em forma farelada (Tabela 2), contribuindo para potencialização da fermentação ruminal, uma vez que alimentos com granulometrias menores apresentam maior densidade das partículas, proporcionando maior digestibilidade e produção de ácidos graxos voláteis (OLIVEIRA et al., 2013).

Neiva (2018) obteve DMS de 82,87% para borregas alimentadas com diferentes enzimas exógenas. Já Siqueira et al. (2020) averiguou DMS de 81,77% para borregas consumindo um mix enzimático composto por enzimas amilolíticas, fibrolíticas e proteolíticas. Rodrigues et al. (2021) avaliando a mesma categoria animal obteve DMS de 85,40% com a adição de enzimas amilolíticas na ração.

Com relação à DPB, essa variável influencia tanto a fermentação ruminal quanto o suprimento de aminoácidos no intestino delgado. A média obtida de DPB correspondeu a 80,64% para os grupos avaliados, fato que pode ser atribuído à alta oferta de farelo de milho e farelo de soja aos animais (Tabela 2), uma vez que segundo Marcondes et al. (2009) a DPB desses ingredientes são de 94,39% e 99,34%, respectivamente. Ainda de acordo com os mesmos autores, a silagem de milho tradicional apresenta 79,72% de DPB.

Já para DFDN foi obtido média de 72,73% devido à alta quantidade de grãos presentes no concentrado (Tabela 2) ofertado aos animais, logo, consumiram muito amido que é prontamente digerido no ambiente ruminal. Em consequência disso, a dieta com alto potencial fermentativo supriu a demanda energética dos microrganismos ruminais e garantiu maior eficiência nas digestibilidades avaliadas nesse estudo. Mertens (1994) descreve que em dietas onde a digestibilidade é menor que 66%, a ingestão de alimentos é determinada por fatores físicos, ou seja, estão diretamente ligados à distensão física do rumen-retículo. Contudo, em dietas que apresentam digestibilidade superiores a 66%, como é o caso desse trabalho, são os fatores fisiológicos que regulam a ingestão de alimentos, ou seja, pelo balanço energético ou nutricional da dieta.

Dessa forma, é possível inferir que os animais apresentaram alto consumo (Tabela 4) e digestibilidades elevadas devido à composição das dietas e relação concentrado:volumoso, uma vez que pela alta oferta de concentrado houve maior necessidade de consumo para atingir a capacidade de enchimento ruminal e conseqüentemente, maior digestibilidade devido à natureza dos ingredientes utilizados para formulação do mesmo.

Como todas as variáveis referentes à digestibilidade apresentaram média geral acima de 70% (Tabela 5) e o consumo de constituintes alimentares foi adequado (Tabela 4), é possível afirmar que a associação entre as enzimas exógenas utilizadas e a dieta de alta qualidade ofertada proporcionou amplo aproveitamento dos nutrientes aos animais durante o período experimental. Dessa forma, partiu-se para verificação dos metabólitos sanguíneos dos animais.

A glicemia não apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos, horário e interação entre esses dois fatores ($P > 0,05$) (Tabela 6). A média geral obtida para essa variável foi de 39,39 mg dL⁻¹ encontrando-se inclusive no valor de referência (VR) de Varanis et al. (2021) para cordeiros, sugerindo que a dieta ofertada foi capaz de suprir as demandas de glicose dos animais em estudo.

Tabela 6 - Concentração glicêmica por tratamento e horário de coleta de cordeiras alimentadas com enzimas exógenas na ração.

Tratamento	Glicemia (mg dL ⁻¹)
Controle	34,77
Amaize [®]	33,22
Amaize [®] + Fibrozyme [®]	44,06
Amaize [®] + Allzyme [®]	45,76
MG	39,39
CV	36,78
P-valor (tratamento)	0,3204
VR	33-98,1
Horário	Glicemia (mg dL ⁻¹)
08:00	44,84
11:00	41,65
14:00	32,69
17:00	45,61
20:00	42,17
P-valor (horário)	0,2450
P-valor (interação tratamento * horário)	0,6982

P-valor: Probabilidade de significância (5%); CV: Coeficiente de variação (%); MG: Média geral. VR: Valor de referência segundo Varanis et al. (2021) para cordeiros.

A glicose é um nutriente fundamental para garantir o aporte energético em ruminantes, sendo essencial para o desenvolvimento cerebral, crescimento fetal e metabolismo muscular (Hammon et al., 2016). Sua síntese ocorre principalmente no fígado tendo como principal precursor o ácido propiônico. Como os concentrados ofertados tinham em suas composições um alimento altamente energético (60% de farelo de milho) (Tabela 2), os tratamentos avaliados obtiveram taxas adequadas de glicemia tanto em comparação entre os tratamentos quanto nos diferentes horários de coleta do experimento.

Além da glicose, para mensurar o efeito das enzimas exógenas no metabolismo energético dos animais, foram avaliados os metabólitos colesterol, triglicerídeos e frutossamina (Tabela 7). Não foram obtidas diferenças estatísticas para tais variáveis ($P > 0,05$), sendo que todas encontram-se inclusas no valor de referência determinado por Varanis et al. (2021) para cordeiros.

Tabela 7 - Concentração dos metabólitos energéticos de cordeiras alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas na ração

Tratamento	Colesterol (mg dL ⁻¹)	Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	Frutossamina (μmol L ⁻¹)
Controle	43,23	28,37	265,56
Amaize [®]	42,30	20,15	267,55
Amaize [®] + Allzyme [®]	44,96	22,75	286,52
Amaize [®] + Fibrozyme [®]	40,91	20,21	294,95
P-valor	0,8073	0,3241	0,6326
CV	12,96	16,41	13,27
MG	42,71	21,87	278,12
VR	15-139,9	5-78	111-413,61

P-valor: Probabilidade de significância (5%); CV: Coeficiente de variação (%); MG: Média geral; VR: Valor de referência segundo Varanis et al. (2021) para cordeiros.

Para os ruminantes, o colesterol tem biossíntese no intestino delgado e células adiposas, onde é sintetizado a partir do acetil-CoA proveniente do ácido acético gerado no rúmen. Suas principais funções consistem em ser um precursor de ácidos biliares e hormônios esteroides, assim como indicar níveis de lipídeos na corrente sanguínea (BRITO et al., 2016). Em contrapartida, os triglicerídeos correspondem a principal maneira de armazenamento de ácidos graxos de cadeia longa, possuindo síntese no tecido adiposo com o acetato como precursor. Seus valores refletem acerca do fornecimento de energia e qualidade da dieta (FERNANDES et al., 2012).

Tendo em vista que os valores de colesterol e triglicerídeos encontram-se inclusos no valor de referência por Varanis et al. (2021) para cordeiros, é possível afirmar que a dieta proporcionou armazenamento adequado de energia e não alterou os níveis lipídicos na corrente sanguínea dos animais durante o período experimental.

Já a frutossamina é uma cetoamina gerada por uma reação não enzimática irreversível de um açúcar com uma proteína. Seus valores podem refletir a glicemia média de até duas semanas (SOARES et al., 2014). Como não foram identificadas alterações em nenhum dos valores obtidos para essa variável e os níveis de glicose também se encontraram adequados, é possível afirmar que a dieta ofertada manteve estável o controle glicêmico dos animais.

Além do perfil energético, foi verificado o metabolismo proteico dos animais para identificação de possíveis efeitos provenientes das enzimas exógenas testadas nesse estudo. Não houve diferença estatística para as variáveis proteínas totais, ácido úrico, albumina e creatinina ($P>0,05$). Entretanto, para a ureia, o tratamento Amaize[®] mostrou-se superior aos demais ($P<0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Concentração dos metabólitos proteicos de cordeiras alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas na ração

Tratamento	Proteínas Totais (g dL ⁻¹)	Ureia (mg dL ⁻¹)	Ácido úrico (mg dL ⁻¹)	Albumina (g dL ⁻¹)	Creatinina (mg dL ⁻¹)
Controle	6,82	89,12 B	2,64	2,70	1,12
Amaize [®]	6,54	113,14 A	2,52	2,76	1,18
Amaize [®] + Allzyme [®]	6,59	93,68 B	2,63	2,85	1,04
Amaize [®] + Fibrozyme [®]	6,57	102,75 AB	2,66	2,77	1,17
P-valor	0,7678	0,0082	0,9762	0,7467	0,2410
CV	6,17	8,14	19,09	6,26	8,01
MG	6,64	100,07	2,61	2,76	1,13
VR	3,10-11,4	12,8-100	0-2,9	1,12-5,38	0,40-1,80

P-valor: Probabilidade de significância (5%); CV: Coeficiente de variação (%); MG: Média geral; VR: Valor de referência segundo Varanis et al. (2021) para cordeiros.

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia gerada no catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen. Seu teor no plasma descreve o nível de proteína na dieta e funcionamento renal, sendo um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína (VARANIS et al., 2021). Os tratamentos Amaize[®] e Amaize[®] + Fibrozyme[®] foram superiores estatisticamente que os demais e ambos se encontram fora do valor de referência de Varanis et al. (2021), indicando que as enzimas amilolíticas associadas a uma dieta altamente energética podem ter aumentado a degradação de amido no ambiente ruminal causando desequilíbrio entre a liberação de componentes nitrogenados e carboidratos, contribuindo para maior escape de amônia e formação de ureia.

Esse fato pode ser justificado pela síntese de proteína microbiana, uma vez que para sua formação é fundamental que haja associação entre as fontes de amônia e carboidratos na dieta. Caso

esse sinergismo não ocorra, a amônia é absorvida pela parede ruminal e transportada até o fígado onde é transformada em ureia provocando perdas energéticas. O oposto ocorreu no tratamento Amaize® e Amaize® + Allzyme®, visto que os teores de ureia se encontram inclusos no intervalo de Varanis et al. (2021), indicando sinergismo e equilíbrio durante a degradação ruminal

Com relação aos valores obtidos de ácido úrico, é possível perceber que a média geral obtida inclusa no valor de referência de Varanis et al. (2021). O ácido úrico é um indicador do metabolismo ruminal recente, uma vez que indica a quantidade de microrganismos presentes no órgão, os quais aumentarão em número de acordo com a qualidade nutricional e ingestão de alimentos pelo ruminante (VARANIS et al., 2021). Dessa forma, como a dieta ofertada foi balanceada de forma a suprir as necessidades nutricionais dos animais (Tabela 2) e o CMS dos grupos avaliados foram elevados (Tabela 4), é possível que essa junção de fatores tenha proporcionado as concentrações de ácido úrico observadas no plasma.

As proteínas totais atuam no transporte de nutrientes, metabólitos e hormônios, mantendo a pressão osmótica e viscosidade do sangue. Apresentam síntese no fígado e sua concentração no plasma está diretamente relacionada com o status nutricional do animal. Já a albumina também possui formação no fígado e constitui aproximadamente 50% da proteína sérica total, onde forma reservas energéticas, transporta ácidos graxos livres e regula o pH sanguíneo (KOZLOSKI, 2017). Como as médias obtidas para ambas as variáveis estão inclusas no valor de referência de Varanis et al. (2021), é possível afirmar que a dieta influenciou positivamente o metabolismo proteico dos animais, indicando que durante o estudo as unidades experimentais tinham aporte proteico adequado e bom estado nutricional.

Já a creatinina é um importante indicativo da função renal, uma vez que sofre pouca ou nenhuma influência de fatores como dieta, idade ou sexo. É usada como referência para corrigir mudanças nas variações de ureia sanguínea, além de refletir a taxa de filtração renal (KOZLOSKI, 2017). A média geral obtida para essa variável foi de 1,13 mg dL⁻¹ e está dentro do valor de referência por Varanis et al. (2021), indicando que durante o ensaio os animais apresentaram função renal satisfatória. Todos os valores encontrados para as variáveis da tabela 9 indicam que a dieta foi suficiente para suprir as necessidades proteicas dos animais.

Além do metabolismo proteico, foram mensuradas as concentrações das enzimas hepáticas durante o ensaio (Tabela 9). Não foram obtidas diferenças estatísticas para as variáveis referentes ao metabolismo hepático ($P > 0,05$) e todos os resultados obtidos encontram-se no valor de referência de Varanis et al. (2021) para cordeiros, indicando que a inclusão de enzimas exógenas para a categoria animal avaliada não causa efeitos deletérios para a função hepática desses animais.

Tabela 9 - Concentração média das enzimas hepáticas para cordeiras alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas na ração

Tratamento	ALP (U L ⁻¹)	GGT (U L ⁻¹)	AST (U L ⁻¹)
Controle	357,75	72,76	45,77
Amaize®	344,75	59,08	65,80
Amaize® + Allzyme®	447,77	61,11	44,55
Amaize® + Fibrozyme®	407,00	65,55	45,07
P-valor	0,5538	0,3216	0,3032
CV	26,66	16,27	45,86
MG	385,42	65,10	48,02
VR	58-727,7	31-154	47-353,5

ALP: Fosfatase Alcalina; AST: Aspartato Aminotransferase; GGT: Gama Glutamil Transferase; P-Valor: probabilidade de significância (5%); MG: média geral; CV: coeficiente de variação (%). VR: Valor de referência segundo Varanis et al. (2021) para cordeiros.

A fosfatase alcalina (ALP) apresenta-se presente na maioria dos tecidos de ovinos, possuindo maior atividade em células do fígado, ossos, rim, epitélio intestinal e placenta, uma vez que demonstra capacidade para hidrolisar substratos fosfatados. Por apresentar amplos intervalos de referência, sua importância em diagnósticos de doenças hepáticas é reduzida, contudo, a redução de seus valores pode ser associada à deficiência de zinco na dieta (KANEKO et al., 2008).

Já a gama glutamil transferase (GGT) é encontrada em maior concentração no fígado, ductos biliares e rins, sendo de importante mensuração para determinação de possíveis doenças hepáticas (KANEKO et al., 2008). Com relação à aspartato aminotransferase (AST), sua principal função para ruminantes é indicar o status do funcionamento hepático e surgimento de transtornos metabólicos, na qual seus níveis aumentam na ocorrência de hemólise, hepatite infecciosa, cirrose, obstrução biliar ou exercício físico intenso (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Dessa forma, como os valores de ALP, GGT e AST encontram-se no valor de referência de Varanis et al. (2021), a inclusão das enzimas exógenas avaliadas nesse estudo não proporcionaram a ocorrência de distúrbios hepáticos aos animais. Além disso, a partir dos valores obtidos para todas as variáveis referentes ao metabolismo dos animais, é possível inferir que a dieta ofertada foi eficiente em garantir bom funcionamento metabólico para os cordeiros em estudo, visto que não houve alterações que indicam a ocorrência de efeitos deletérios à saúde dos mesmos.

Conclusão

As associações entre as enzimas utilizadas garantiram elevado consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes. Os tratamentos Amaize[®] e Amaize[®] + Fibrozyme[®] apresentaram valores elevados de ureia indicando falta de sinergismo entre a degradação de carboidratos e compostos nitrogenados.

Conflitos de interesse

Não houve conflito de interesses dos autores.

Contribuição dos autores

Gustavo Roberto Dias Rodrigues – coleta de dados, interpretação dos resultados e escrita; Marco Túlio Santos Siqueira – escrita e revisão do texto; Thamiris Oliveira Dutra – coleta de dados; Erica Beatriz Schultz – escrita e revisão do texto; Luciano Fernandes Sousa – Análise estatística dos dados coletados; Gilberto de Lima Macedo Júnior – ideia original, orientação e correções.

Referências bibliográficas

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, p. 1317-1330, 2014. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7273>

- BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 37, E47, 2004. https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E37x
- BRITO, D. R. B.; ROCHA, V. N. C.; CUTRIM JUNIOR, J. A. A.; CHAVES, D. P.; SILVA, E. C. V.; COELHO, A. P.; SOARES, E. S.; SILVA, E. M.; SILVA, I. C. S. Perfil bioquímico de ovinos alimentados com níveis de inclusão do resíduo úmido de cervejaria. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n. 4, p. 572-586, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20160048>
- CANNAS, A.; TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 149-169, 2004. <https://doi.org/10.2527/2004.821149x>
- CIRNE, L. G. A.; OLIVEIR, G. J. C.; JAEGER, S. M. P. L.; BAGALDO, A. R.; LEITE, M. C. P.; OLIVEIRA, P. A.; MACEDO JUNIOR, C. M. Desempenho de cordeiros em confinamento alimentados com dieta exclusiva de concentrado com diferentes porcentagens de proteína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 1, p. 262-266, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000100037>
- DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C. **Métodos para análise de alimentos – INCT - Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco, Suprema, 2012.
- FERNANDES, S. R.; FREITAS, J. A.; SOUZA, D. F.; KOWALSKI, L. H.; DITTRICH, R. L.; ROSSI JUNIOR, P.; SILVA, C. J. A. Lipidograma como ferramenta na avaliação do metabolismo energético em ruminantes. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 18, n. 1, p. 21-32, 2012. <https://doi.org/10.18539/cast.v18i1.2484>
- FREITAS, P. R.; ULHÔA, C. J.; NASSAR, R. F.; SOUTO, C. N.; MOTA, V. S.; PADUA, D. M. C. Efeito de enzimas amilolíticas de *Aspergillus awamori* sobre a digestão do amido em bovinos. **Ciência Agrícola**, v. 16, n. 3, p. 27-34, 2018. <https://doi.org/10.28998/rca.v16i3.3183>
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre, 2006.
- HAMMON, H. M.; SCHÄFF, C. T.; GRUSE, J.; WEBER, C. Hepatic metabolism of glucose in the adaptation of the transition period in the dairy cow. In: SKOMIAL, J.; LAPIERRE, H.) Eds. **Energy and protein metabolism and nutrition**. Wageningen, Netherlands, 2016.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego, 2008.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3ª ed. Rio Grande do Sul, 2017.
- KOZLOSKI, G. V.; TREVISAN, L. M.; BONNECARRÉRE, L. M.; HARTER, C. J.; FIORENTINI, G.; GALVANI, D. B.; PIRES, C. C. Níveis de fibra em detergente neutro na dieta de cordeiros: consumo, digestibilidade e fermentação ruminal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 893-900, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000500027>
- MARCONDES, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; SILVA, L. F. C.; FONSECA, M. A. Degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta de alimentos para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 11, p. 2247-2257, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001100026>
- MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J. K.; HINTZ, H. F.; WARNER, R. G. **Nutrição Animal**. 3ª ed. Rio de Janeiro, 1984.
- MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JUNIOR, G. C.; MOSER, L. E.; MERTENS, D. R. (Eds.). **Forage quality, evaluation and utilization**. American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America, Madison, p. 450-493, 1994.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington, DC, USA, 2007.

NEIVA, M. C. **Avaliação de enzimas exógenas na nutrição de ovinos**. 56p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Ruminantes) - Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia, 2018. <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/24572?mode=full>

OLIVEIRA, V. S.; SANTANA NETO, J. A.; VALENÇA, R. L. Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, n. 20, p. 1-21, 2013. http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/ArUrZtm2EdeQKqr_2013-6-21-15-40-8.pdf

RODRIGUES, G. R. D.; SCHULTZ, E. B.; SIQUEIRA, M. T. S.; FONSECA, A. L.; OLIVEIRA, M. R.; SILVA, D. A. P.; MACEDO JUNIOR, G. L. Use of active and inactive yeasts in lamb diets: intake, digestibility, and metabolism. **Veterinária Notícias**, v. 27, n. 2, p. 19-43, 2021. <https://doi.org/10.14393/VTN-v27n2-2021-58884>

SIQUEIRA, M. T. S.; RUELA, P. A. C.; OLIVEIRA, K. A.; SILVA, D. A. P.; SOUSA, L. F.; MACEDO JÚNIOR, G. L. M. Avaliação dos parâmetros nutricionais e metabólicos de borregas alimentadas com leveduras na ração. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 12, p. 1-10, 2020. <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2020.23902>

SOARES, F. A. P.; BORBA NETO, A. V.; FREITAS, I. B.; CARVALHO, C. C. D.; BARBOSA, J. D.; SOARES, P. C. Perfil sérico de alguns constituintes sanguíneos de ovelhas da raça Dorper no período gestacional e pós-parto. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 57, n. 3, p. 266-272, 2014. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.ao092>

SUJANI, S.; SERESINHE, R. T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: a review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 9, n. 3, p. 85-99, 2015. <https://doi.org/10.3923/ajas.2015.85.99>

VARANIS, L. F. M.; SCHULTZ, E. B.; OLIVEIRA, K. A.; SOUSA, L. F.; CRUZ, W. F. G.; MACEDO JUNIOR, G. L. Serum biochemical reference ranges for lambs from birth to 1 year of age in the tropics. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 1725-1740, 2021. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p1725>

YANG, W. Z.; SON, Y. S.; BEAUCHEMIN, K. A. Effects of exogenous enzymes on ruminal fermentation and degradability of Alfalfa Hay and Rice Straw. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 1, p. 56-64, 2011. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.90369>

ZILIO, E. M. C.; DEL VALLE, T. A.; GHIZZI, L. G.; TAKIYA, C. S.; DIAS, M. S. S.; NUNES, A. T.; SILVA, G. G.; RENNÓ, F. P. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 5, p. 4179-4189, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14949>

Recebido em 16 de março de 2022

Retornado para ajustes em 18 de maio de 2022

Recebido com ajustes em 19 de maio de 2022

Aceito em 20 de junho de 2022