UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL

IMPORTÂNCIA DAS ENZIMAS FIBROLÍTICAS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Priscila Aparecida Nardo

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL

IMPORTÂNCIA DAS ENZIMAS FIBROLÍTICAS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Priscila Aparecida Nardo

Orientador: Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias — UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para graduação em Zootecnia.

N224i

Nardo, Priscila Aparecida

Importância das enzimas fibrolíticas na alimentação de vacas leiteiras: revisão bibliográfica / Priscila Aparecida Nardo. -- Jaboticabal, 2022

34 p.: tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado -Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira

Aditivo. 2. Bovino. 3. Forragens. 4. Fibra. 5. Energia.
 Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DEPARTAMENTO: ZOOTECNIA

CERTIFICADO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: IMPORTÂNCIA DAS ENZIMAR FIBROLÍTICAS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ACADÊMICO: PRISCILA APARECIDA NARDO CURSO: ZOOTECNIA ORIENTADOR: Prof. Dr. Mauro Dal Secco De Oliveira PERÍODO: 1º SEMESTRE ANO: 2022 Aprovado com conceito: Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. Sim Reprovado: [BANCA EXAMINADORA: (Assinaturas) (Nomes) PRESIDENTE: Prof. Dr. Mauro dal Secco de oliveira MEMBRO: Tarsila Junqueira Witkowski Frangetto MEMBRO: Maria Júlia Generoso Ganga Jaboticabal 07 /04 /2022 Aprovado em reunião do conselho do departamento em: Chefe do Departamento

> Prof. Dr. EDNEY PEREIRA DA SILVA Chefe do Departamento de Zootecnia Matrícula Nº 422823-6

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu amado Pai, que foi quem me ensinou a amar, cuidar e respeitar aos animais. Graças a ele, escolhi ser Zootecnista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus e a Nossa Senhora Aparecida minha mãe e grande protetora, por terem me mantido na trilha certa durante toda essa trajetória acadêmica, com saúde e forças para chegar até o final.

Aos meus pais José Nardo e Judith Helena Bruscadin Nardo pelo apoio incondicional que serviram de grande exemplo de caráter, honestidade, perseverança, vocês são alicerce para os meus sonhos e realizações.

A minha "irmãe" mais velha Vânia de Cássia Nardo, pelo apoio, compreensão, dedicação e carinho a mim dedicado, se disponibilizando a fazer e estando presente em momentos nos quais fui impossibilitada por estar me dedicando a afazeres acadêmicos, em especial estar junto dos nossos pais e meus cachorros cuidando e zelando da saúde e bemestar dos mesmos.

Com coração cheio de gratidão agradeço a minha amiga e irmã mais nova por me acordar para viver o meu sonho, abrir os caminhos, me orientando, aconselhando, muitas vezes puxando minhas orelhas, me fazendo enxergar que os estudos é o caminho mais concreto e seguro para o sucesso profissional e consequentemente pessoal, há muitas coisas a serem ditas a você que acho que até mais que eu mesma acredito e sempre apostou em mim, porém com palavras não sei me expressar.

Agradeço as amigas que tornam irmãs, Evelyn Espósito Montanini e Danielli Cristina da Silva pela força e amparo nos momentos mais terríveis, só os fortes permanecem e vocês são ROCHAS.

Carinhosamente agradeço minha sobrinha Giovana Nardo Velano, meu cunhado Ronaldo Minchueli e Carlos André Montanini por estarem sempre presentes, me apoiando e cedendo, dividindo sua mãe e suas esposas comigo nos momentos de aflição.

Agradeço a minha querida amiga e "Marida" Mayara Porcari de Oliveira e toda sua família pela força, apoio, palavras de consolo, compreensão, acolhimento, companheirismo, uma das responsáveis por acender e fortalecer a chama de um grande sonho.

As minhas companheiras e amigas de turma, quarto, cantoria, iniciações cientifica, estágio, comilanças, estudos, muito estudo, aulas particulares, puxões de orelha, conselhos, noites em claro, parceiras de vida Laís Fernanda Brunhara e Tarsila J W Frangetto, obrigada por não desistirem de mim, da minha amizade e que a pesar dos pesares nunca me abandonar e terem paciência com minhas dificuldades.

A todos os amigos e amigas aqui citados ou não que colaboraram, me orientaram contribuindo para meu desenvolvimento, crescimento profissional e pessoal durante toda trajetória acadêmica, Adélia M Magalhães, Ana Maria Moreira, Breno Betiolli, Carolina Bernardes, Gabriela Censão, João Paulo Bruscadin, Júlia Pereira, Laís Lima, Mayara Andrioli, Monique Carvalhal, Rafael Reis Alves Del Pintor, Yasmin Porto e a todos membros, ex-membros do Grupo ETCO, CAP Jr Consultoria e Republica Ouro Fino.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador Mauro pelo acolhimento, paciência, incentivo e pela dedicação do seu escasso tempo ao meu projeto de pesquisa.

Também quero agradecer à Universidade Júlio de Mesquita Filho, UNESP – FCAV, a todos os professores pela elevada qualidade do ensino oferecido e funcionários deste campus.

	_	
₩7	ĭ	÷
v	1	ı

"Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas"

LISTA DE FIGURAS	Página	
FIGURA 1. Fatores relacionados com a ação das enzimas	08	

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. Digestibilidade total das diferentes frações de acordo com os tratamentos......11

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	01
2.	OBJETIVO	02
3.	MATERIAL E MÉTODOS	03
4.	REVISÃO DA LITERATURA	04
	4.1. O rúmen e o ambiente ruminal	04
	4.2. Os bovinos e os aditivos	04
	4.3. As enzimas exógenas	05
	4.4. As enzimas fibrolíticas e sua ação	07
	4.4.1. As principais enzimas fibrolíticas	09
	4.4.1.1. Hemicelulases e Xilanases	09
	4.4.1.2 Pectinases	10
	4.4.1.3 Celulases	10
	4.5. Desempenho de vacas leiteiras alimentadas com enzimas fibrolíticas	10
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	14
6.	RESUMO	15
7.	SUMMARY	16
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

1. INTRODUÇÃO

Para manter altos níveis de produção de leite (sistemas de produção intensiva) e fornecer as concentrações de nutrientes necessárias, grandes quantidades de concentrado devem ser fornecidas. No entanto, isso pode causar certas anomalias na fermentação ruminal, afetando a produção e a saúde animal. Com isso, o uso de enzimas digestivas está ganhando força na indústria, com o objetivo de melhorar o desempenho e o bem-estar animal (McCARTHY et al., 2013).

Enzimas são proteínas produzidas através de um processo fermentativo por um microrganismo vivo, que podem ser bactérias, fungos ou leveduras, e não contém células microbianas. Essas enzimas são isoladas dos subprodutos da fermentação de microrganismos. As enzimas podem ser classificadas como amiloticas, fibrolticas ou proteolticas (ADESOGAN et al., 2014).

O mecanismo de ação das enzimas no ambiente ruminal abrange hidrólise direta, estimulação da população microbiana, sinergismo com enzimas microbianas e aumento na adesão microbiana. Sua atuação no rúmen é rápida e se dá em poucas horas após sua inclusão (MORAIS et al., 2011).

As principais estruturas de uma planta são formadas por polissacarídeos (celulose e hemicelulose). Os ruminantes são capazes de transformar esses compostos em carne e leite para consumo humano devido à sua microbiota ruminal. A matéria seca das forragens contém em média 40-70% de parede celular. Em condições de alimentação ideal, a digestibilidade dessa fração no trato digestivo ainda é menor que 65%. Por essa razão, as enzimas fibrolíticas são as mais estudadas e utilizadas para ruminantes (SOUSA, 2019).

O objetivo principal do uso de enzimas na dieta de ruminantes é diminuir o custo de produção de carne e leite. O custo de forragens e grão cereais tem se elevado no cenário mundial, e como consequência, produtores estão procurando alternativas para melhorar a eficiência de conversão alimentar. Muitas das pesquisas em ruminantes, estão focando no estudo de enzimas fibrolíticas exógenas na tentativa de melhorar a digestibilidade da fibra, elevando assim o consumo de energia digestível aumentando a produtividade dos animais (BEAUCHEMIN et al., 2003; HOLTSHAUSEN, 2011).

2. OBJETIVO

A presente revisão de literatura teve como objetivo, verificar a relação das enzimas fibrolíticas em rações de vacas leiteiras com diversos fatores envolvendo o desempenho e saúde da vaca.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão da literatura que permitiu verificar a importância das enzimas fibrolíticas na alimentação de vacas leiteiras, sob vários aspectos. Para tal, e maior facilidade de abordagem do tema, foram utilizados itens e subitens envolvendo vários aspectos, tais como: definição, aspectos gerais e particularidades, consequências, metabolismo fisiológico e fatores relacionados com o desempenho dos animais.

Por meio do levantamento bibliográfico, foi possível proporcionar subsídios e maiores esclarecimentos sobre as enzimas fibrolíticas para vacas leiteiras. Foram utilizadas informações de revistas especializadas em produção animal (nacionais e internacionais), sites, boletins técnicos, anais de congressos e simpósios, teses, dissertações e de livros especializados em pecuária leiteira.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. O rúmen e o ambiente ruminal

A fisiologia do rúmen exige teores de material fibroso que regula o pH e influencia a dinâmica de crescimento da população bacteriana dentro do rúmen (GARCIA, 2019). Os desequilíbrios no pH ruminal, produzidos pela fibra inadequada na dieta, podem levar à apresentação de acidose ruminal clínica ou subclínica (KLEEN et al., 2003). Junto com a queda do pH, as relações entre os diferentes tipos de bactérias mudam (MARTIN, 1998).

Sob estas condições, a produção de proteína bacteriana e de ácidos graxos voláteis pode se alterar levando à queda no consumo alimentar, causando menor síntese de leite e mudança na sua composição (BACHMAN, 1992). Outra conseqüência derivada está relacionada com a apresentação de desequilíbrios metabólicos (cetose, deslocamento de abomaso) que afetam a saúde e a rentabilidade da produção animal (OETZEL, 2001).

4.2. Os bovinos e os aditivos

Segundo Garcia (2019), pelo fato dos ruminantes serem animais que conseguem digerir e aproveitar os nutrientes de origem vegetal, como as forragens, isso só foi possível devido à uma simbiose mutualística, com microrganismos presentes no rúmen dos bovinos, como as vacas leiteiras. A forragem ingerida consegue ser fermentada por esses microrganismos, ou seja, a forragem serve de alimento para bactérias, protozoários e fungos, e os mesmos devolvem para o bovino, nutrientes como energia, proteína e alguns minerais e vitaminas, todos oriundos dessa fermentação.

A manipulação da fermentação ruminal (ou seja, todo processo que altera o metabolismo normal do rúmen) é considerada uma das ferramentas para aprimorar a eficiência da produção no quesito nutricional de ruminantes. Pequenas alterações na dieta ofertada aos animais podem aumentar ou diminuir os produtos do processo de fermentação e, consequentemente, alterar a disponibilização de energia e nutrientes destinados para a produção animal (MORAIS et al., 2011).

Umas das formas mais conhecidas de manipular a fermentação ruminal se dá pelo uso de aditivos alimentares (MORAIS et al., 2011). A Instrução Normativa SARC nº 13, de 30 de novembro de 2004, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define aditivos como "produtos destinados à alimentação animal: substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada

normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano"

Além de otimizar a produtividade dos animais através da manipulação ruminal, os aditivos, introduzidos na ração ou presentes naturalmente nos alimentos, têm sido cada vez mais estudados e utilizados com intenção de reduzir a emissão de metano e excreção de nitrogênio, bem como promover o bem-estar e a saúde animal, diminuindo o impacto do sistema de produção no meio ambiente. Ainda, objetiva-se melhorar a qualidade dos alimentos pela conversão alimentar melhorada, favorecendo a saúde e o metabolismo (MORAIS et al., 2011).

Os aditivos podem ser divididos em categorias gerais, como: antibióticos ionóforos, antibióticos não ionóforos, probióticos, enzimas, extratos naturais de plantas, entre outros (NAGAJARA et al., 1997).

Atualmente, estes aditivos são inseridos em dietas de vacas leiteiras nos Estados Unidos, Brasil e em muitos outros países de destaque no cenário da produção leiteira mundial, mas discussões sobre o risco de resíduos no leite e a saúde humana estão em evidência em todo o planeta. Neste sentido, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para ofertar produtos com efeito similar aos antimicrobianos sem, no entanto, oferecer riscos à saúde dos consumidores (MORAIS et al., 2011).

Em função da eminente proibição do uso dos antibióticos como promotores de desempenho, que já ocorre principalmente na Europa e atrai uma quantidade cada vez maior de adeptos, novas tecnologias devem ser ofertadas aos nutricionistas e produtores para a manutenção de sistemas intensivos de produção de leite. Neste sentido, as enzimas digestivas são alternativas de grande interesse dos pesquisadores da área de nutrição animal, capazes de promover melhorias na digestibilidade dos nutrientes e, consequentemente, no desempenho de vacas leiteiras (OLIVEIRA; 2019).

4.3. As enzimas exógenas

O estudo de enzimas tem grande importância pelo fato de serem essenciais para os ruminantes não só na degradação dos alimentos, mas também sobre algumas doenças genéticas hereditárias em que pode haver uma deficiência ou até mesmo ausência total de uma

ou mais enzimas e outras doenças podem se originar devido à aplicação e atividade de determinada enzima, e ainda alguns medicamentos agem através de interações com enzimas. (NELSON, 2011).

As condições ideais para atuação das misturas enzimáticas comerciais normalmente são: temperatura em torno de 60°C e o pH entre 4 e 5 (COUGHLAN, 1985). Essas condições diferem das condições do rúmen de acordo com Beauchemin et, al, (2003) afirmando que as condições normais do rúmen que possui temperatura de 39°C, pH 6,0 e 6,7 e as misturas enzimáticas favorecem a atividade fibrolitica em pH 4,5.

As enzimas como um todo são proteínas globulares, e podem ser de estrutura terciária ou quaternária, atuando como catalisadores biológicos que compõem variadas reações bioquímicas, e ainda aceleram reações termodinamicamente favorecidas, são versáteis e específicas ao substrato que utilizam (STRYER et al., 2004).

Existem variados métodos de se aplicar enzimas. Todavia o método e a quantidade ideal ainda são desconhecidos. Como atividade da enzima depende estritamente do tipo de alimentação a especificidade da enzima ao tipo de alimento deve ser observada ao selecionar o método de fornecimento (BATH et al., 2001).

O hidrogênio e sua concentração influencia principalmente a velocidade das reações químicas, e a desnaturação das enzimas se dá de acordo com os extremos de pH. Portanto, cada enzima possui uma faixa de pH ideal. (CAMPESTRINI et al., 2015).

As características das reações e propriedades catalisadas por enzimas é que a reação tem sua atividade na cavidade da enzima conhecida como sítio ativo, apenas sendo um substrato especifico que pode se ligar ao sítio ativo. Para ocorrer a máxima eficiência de atividade das enzimas o meio em que ocorre a reação enzimática deve estar com temperatura e pH ótimos (NELSON; COX, 2011).

De acordo com Jouany et al. (2007), a maior parte das enzimas desenvolvidas pela indústria são proveniente do fungo *Tricoderma* e sua função consiste em fazer a degradação da fibra e efetuar a liberação das enzimas uma por uma no meio, e agem principalmente na degradação do substrato. Diferentemente do sistema que age a microbiota ruminal, pois a grande maioria sintetiza os complexos multienzimáticos. As principais enzimas provém a partir de quatro tipos de bactérias (*Bacillus subtilis, Lactobacillus acidophilus, L. plantarum, e*

Streptococcus faecium, spp.) e de três fungos (Aspergillus oryzae, Trichoderma reesei, e Saccharomyces cerevisiae) e são utilizadas como aditivos na alimentação animal.

4.4. As enzimas fibrolíticas e sua ação

O aumento da digestão da fibra usando enzimas exógenas pode levar a melhorias significativas no desempenho de ruminantes em muitas partes do mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Os efeitos das enzimas fibrolíticas são influenciados por muitos fatores como o tipo e a dose da enzima, tipo de dieta aos outros animais e métodos de aplicação das tais enzimas (BEAUCHEMIN et al, 2006).

Segundo Hristov et al. (2000) as misturas enzimáticas fibrolíticas podem causar um aumento de 30% na atividade e função da Xilanase (classe de enzimas) especialmente no intestino, usando a suplementação especifica dessas enzimas na dieta dos animais. Além disso, foi observada certa redução na viscosidade intestinal após fornecimento dos níveis mais altos de enzimas, que resultou uma maior absorção de nutrientes no intestino dos animais.

O mecanismo de ação das enzimas no ambiente ruminal abrange hidrólise direta, estimulação da população microbiana, sinergismo com enzimas microbianas e aumento na adesão microbiana. Sua atuação no rúmen é rápida e se dá em poucas horas após sua inclusão. Porém, por vezes, observa-se sua inativação por outros microrganismos ruminais (GENCOGLU et al., 2010).

Vale ressaltar que, em alguns casos, ao introduzir enzimas fibrolíticas, é possível ocasionar uma redução de pH, alterando a mastigação, a ruminação e o ócio. Isso se deve à capacidade de hidrólise direta causada pelas enzimas, que reduz a efetividade física das fibras no rúmen. As enzimas exógenas aumentam a disponibilidade de polissacarídeos de reserva, gorduras e proteínas, protegidas da atividade digestória pelos polissacarídeos da parede celular, além de minimizar os efeitos negativos provocados pelos fatores antinutricionais presentes nos diversos ingredientes e otimizar a atividade enzimática endógena, principalmente em animais jovens, que possuem um sistema enzimático imaturo (LEE-RANGEL et al., 2010).

De acordo com Vieira et al. (2003) a ação das enzimas depende de alguns fatores (Figura 1).

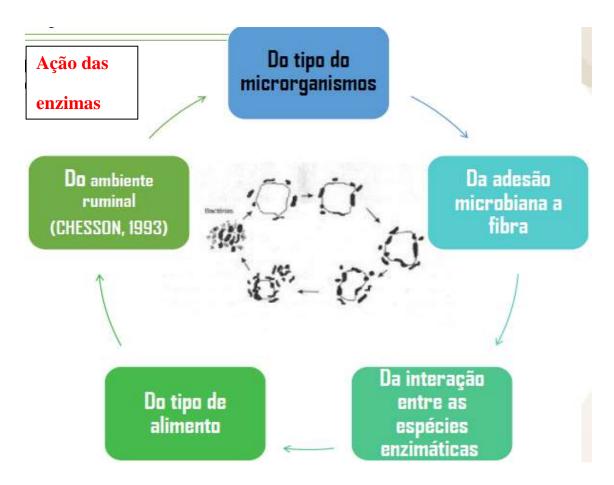


FIGURA 1. Fatores relacionados com a ação das enzimas: Modificado de Vieira et al., (2003).

Ainda segundo Vieira et al., (2003) a utilização de enzimas fibrolíticas exógenas melhora a digestão das fibras, melhora o balanço energético negativo, a produção de leite, composição do leite, eficiência alimentar bruta, dependendo do período de lactação da vaca leiteira.

A inclusão de enzimas nas dietas tem sido feita de 0,01 a 1% na ingestão de matéria seca (IMS) total, contribuindo com até 15% da atividade fibrolítica total do fluido ruminal. Em estudos com bovinos providos de cânula no rúmen, a adição de enzimas fibrolíticas (celulase e xilanase) em dietas compostas de silagem de milho e feno de tifton 85 não gerou efeito sobre o consumo de nutrientes para ambos os volumosos, mas, por outro lado, aumentou a digestibilidade total de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido

(FDA) e celulose (CEL) de 36,87; 36,21 e 46,89%, respectivamente, para 41,19; 40,01 e 50,46%. Além disso, essa enzima, quando adicionada ao feno de tifton, aumentou a atividade da enzima β-1,4-endoglucanase (ZEOULA, 2008).

Uma das limitações no uso de enzimas é a utilização de vários tipos de forragens nas dietas de ruminantes, este é um problema de especificidade enzimática, onde cada enzima se apresenta de uma determinada forma a depender da forragem utilizada. Porém, a maior parte das respostas positivas com uso de enzimas acontece quando a energia é limitante para a produção, principalmente em sistemas de vacas de alta lactação e bovinos de corte em crescimento. Portanto, respostas produtivas em aumento de desempenho podem ser atribuídas a outros fatores, como o estado fisiológico (MACHADO, 2019).

4.4.1. As principais enzimas fibrolíticas

Geralmente, consideram-se como aditivos de silagens aqueles produtos que podem ser adicionadas às forragens ensiladas para melhorar a fermentação ou reduzir perdas, podendo ser classificados em inibidores e estimuladores de fermentação (WOOLFORD, 1984; PITT, 1990).

A utilização de enzimas fibrolíticas na ensilagem visa aumentar a eficiência do processo fermentativo, favorecendo a atuação de microrganismos desejáveis, como as bactérias produtoras de ácido lático (MUCK et al., 1997; KUNG JR., 2000). As principais enzimas fibrolíticas utilizadas, como as hemicelulases, celulases, pectinases e xilanases, atuam disponibilizando açúcares simples como fonte de nutrientes para as bactérias fermentadoras (MUCK et al., 1997).

4.4.1.1. Hemicelulases e Xilanases

De acordo com Melo (2010), as hemicelulases (xilanases) são glicosidases (O-glicosidases hidrolases, EC 3.2.1.x) que catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas β 1,4 entre os monômeros de xilose da 33 cadeia central da xilana. Foram inicialmente nomeadas de pentonases e então reconhecidas pela União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB) em 1961 quando foram codificadas como EC 3.2.1.8.

A xilanase tem como nome oficial "endo-1,4-βxilanase", porém ela é normalmente chamada por seus diversos sinônimos: xilanase, endoxilanase, 1,4-β-D-xilana-xilanohidrolase, endo-1,4-β-Dxilanase, β-1,4-xilanase e βxilanase. As xilanases são divididas em duas famílias principais: F/10 e G/11), as xilanases da família 10 são maiores, mais complexas e produzem

oligossacarídeos menores; as xilanases da família 11 são mais específicas para a xilana (MELO, 2010).

4.4.1.2. Pectinases

As pectinases compõem um grupo de enzimas que degeneram substâncias pécticas, através de hidrolises que atacam as ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica, são classificadas como ser despolimerizantes ou desesterificantes e são produzidas por plantas, fungos filamentosos, bactérias e leveduras (FAVELA et al., 2005).

Esse grupo de enzimas pode ser sintetizado por uma grande variedade de microrganismos capazes de produzir enzimas pectinolíticas, incluindo bactérias, fungos filamentosos, leveduras, protozoários, insetos e nematoides. Contudo, devido à fácil produção e à diversidade de pectinases, os fungos filamentosos são os mais empregados para a produção em escala industrial dessas enzimas, o pH ideal das pectinases produzidas por fungos, aproxima-se do valor de pH de muitos sucos de frutas, na faixa de 3,0 a 5,5. Assim esse grupo enzimático atua diretamente em processos fisiológicos relacionados à reestruturação da parede celular da planta, sendo responsáveis pela degradação da pectina, (NHOLD et al., 2013).

4.4.1.3. Celulases

A degradação de compostos celulósicos envolve a ação hidrolítica de várias enzimas que catalisam a quebra das ligações glicosídicas ~(1~4) entre resíduos de D-glicose na molécula de celulose ou de seus derivados solúveis (BISARIA et al., 1981).

4.5. Desempenho de vacas leiteiras alimentadas com enzimas fibrolíticas

Durante a última década o rebanho leiteiro passou por intensas modificações, como maior melhoramento genético e com isso aumento da produção, contudo o desafio atual é elevar a produtividade desses animais, nesse sentido muito se tem discutido a respeitos dos aditivos alimentares na dieta dos ruminantes (WATTS et. al., 2018).

Os primeiros relatos da utilização de enzimas exógenas na nutrição de ruminantes datam da década de 1960. Inicialmente, acreditava-se que as enzimas exógenas no ambiente ruminal seriam desnaturadas ou digeridas sem possibilidade de melhorar a fermentação ruminal. Entretanto, foi verificado que algumas enzimas apresentavam estabilidade no líquido

ruminal e, dessa forma, poderiam ter efeito positivo na nutrição de ruminantes (MORGAVI et al., 2010).

Lewis et al. (1999), constataram maior produção de leite, cerca de 1,3 kg/dia e melhor desempenho na condição corporal de vacas no inicio e meio da lactação suplementadas com enzimas fibrolíticas adicionadas sobre o volumoso.

Yang et al. (1999), fornecendo dois níveis diferentes de produto enzimático em uma dieta com 45% de concentrado, observaram aumento de 7% na produção de leite de vacas alimentadas com enzimas comparadas com vacas alimentadas com a dieta controle.

Segundo Peres (2000) uma característica básica dos ruminantes é sua grande capacidade de digestão de fibras, através da ação dos microorganismos do rúmen. Em função disso, sempre se considerou que a atividade fibrolítica no rúmen não poderia ser significativamente aumentada pela adição de enzimas. Além disso, geralmente se assume que, pelo fato das enzimas serem solúveis, elas não resistiriam à atividade proteolítica no rúmen.

Ainda conforme Peres (2000) efeitos positivos da adição de enzimas fibrolíticas a dietas de ruminantes têm sido reportados, tanto para animais em crescimento quanto para vacas em lactação. Um bom exemplo destes resultados é o trabalho de Rode et al., (1999), que testou o uso de enzimas fibrolíticas em uma dieta à base de silagem de milho (24%); feno picado de alfafa (15%) e um concentrado à base de grãos de cevada laminados (61%). A mistura de enzimas utilizadas continha principalmente xilanase e celulase e foi adicionada na proporção de 1,3 g/kg de matéria seca da dieta. Um grupo de vacas recebeu a dieta tratada e outro serviu de controle (mesma dieta sem enzimas). Não houve alteração na ingestão de matéria seca, porém houve um significativo aumento da digestibilidade da dieta (Tabela 1).

Tabela 1. Digestibilidade total das diferentes frações de acordo com os tratamentos.

TABELA 1: Digestibilidade total das diferentes frações				
	CONTROLE	ENZIMAS		
MATÉRIA SECA	61,70%	69,10%		
MATÉRIA ORGÂNICA	63,90%	70,60%		
NDF	42,50%	51,00%		
ADF	31,70%	41,90%		
PROTEÍNA BRUTA	61,70%	69,80%		

NDF: Fibra em Detergente Neutro; ADF: Fibra em detergente ácido. Fonte: Adaptado de Peres (2000).

Este aumento na digestibilidade proporcionou um aumento na produção de leite de 35,9 para 39,5 kg de leite/vaca/dia (P = 0,11), muito embora os teores de gordura e proteína do grupo tratado com enzimas tenha sido significativamente inferior (gordura 3,87% x 3,37% e proteína 3,24% x 3,03%, respectivamente para o controle e enzimas), o que acabou por igualar a produção de leite corrigida para gordura (34,4 x 35,8 kg/dia) (PERES, 2000).

Destaca-se que a aplicação das enzimas nos alimentos aumenta seu tempo de ação no rúmen, pois, de outra forma, por serem solúveis, elas seriam rapidamente carregadas pelo fluído ruminal para fora do rúmen. É possível ainda que as enzimas não hidrolizem diretamente a fibra dos alimentos mas aumentem a atividade global das enzimas já existentes no rúmen, que seria sustentada ao longo do tempo pela lenta liberação das enzimas do alimento. Outra hipótese é que as enzimas adicionadas ao alimento facilitariam sua ligação com as bactérias, diminuindo o tempo necessário para a colonização e acelerando o processo de digestão (PERES, 2000).

Martins et al (2006) avaliaram o consumo e a digestibilidade aparente total de dietas compostas de silagem de milho e feno de tifton 85 suplementadas com celulase e xilanase e encontraram aumento de digestibilidade da parede celular dos volumosos.

Kung Jr. et al (2000) trataram silagem de milho e feno de alfafa com adição de celulase e xilanase antes de misturar com concentrados e obtiveram melhoria na produção de leite sem qualquer oscilação no consumo de matéria seca, porém ainda é necessário avaliar as fontes de enzimas e as doses necessárias para obter um bom desempenho e ganho econômico.

Geralmente as enzimas exógenas atuam mais eficientemente no ambiente ruminal com pH em torno de 5,5-6,8.Entretanto, enzimas de *Trichoderma* spp., podem atuar eficientemente com pH menores e temperaturas maiores do que são encontrados tipicamente (BEAUCHEMIM et al., 2011).

A suplementação de enzimas fibrolíticas exógenas pode aumentar a atividade enzimática no rúmen como visto por Beauchemine et al., (1996) que obtiveram aumento de 15% na atividade da celulase, e Wallace (2001) que obteve aumento de 5% da atividade xilanase. Mas este efeito é dependente da quantidade de enzimas que são inseridas nas dietas.

Morgavi et al. (2000) demonstraram significante sinergia entre enzimas exógenas e enzimas microbianas, em que uma potencializa a ação da outra. Estes autores combinaram enzimas de *Trichoderma longibrachiatum* com extrato de enzimas ruminais de bovinos recebendo alta concentração de fibra ou alta concentração de concentrado. Observaram que a hidrólise da celulose e da xilana aumentaram 35 e 100%, respectivamente. Além disso, a hidrólise da silagem de milho aumentou 40%.

As enzimas podem também ser aplicadas como aditivo em ração para ruminantes no cocho, no intuito de aumentar a digestibilidade de alimentos fibrosos e, consequentemente, o desempenho do animal. Quando fornecidas dessa maneira, as enzimas fibrolíticas formam ligações com os substratos, que as protegem da degradação ruminal e podem aumentar a digestibilidade da forragem através de diferentes mecanismos, como: hidrólise direta, melhoria da aceitabilidade, alterações na viscosidade intestinal e mudanças do local de digestão (BEAUCHEMIN et al., 2003; MARTINS et al., 2007; MERTENS, 2004).

A aplicação de aditivos enzimáticos (celulase) no início da ensilagem permitiu aumentar a degradação do tecido de parênquima em alfafa (Medicago sativa L.) e Phleum pratense L., reduzindo as frações de FDN, FDA, hemicelulose e celulose, fato que não representou, necessariamente, aumento na digestibilidade ruminal (ISHIDA et al., 2001).

Houve efeitos positivos em vacas lactantes e gado de corte uma boa digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN), e da fibra em detergente ácido (FDA) com o uso de enzimas xilanases e celulase. (OLIVEIRA et al., 2011).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O leite é uma das commodities agropecuárias mais importantes do mundo e todos os dias bilhões de pessoas o consomem nas suas mais diversas formas (IBGE, 2020). No intuito de suprir a demanda dos produtos do setor, a pecuária leiteira vem passando por intensas transformações, com objetivo de elevar a produtividade de forma sustentável e competitiva, visando a redução dos custos de produção, principalmente com alimentação a qual é responsável por até 70% desses custos (GANDRA et al., 2017).

Na atividade leiteira o custo das forragens vai de 10 a 30% do custo da alimentação, o que as torna a principal fonte de alimento para os animais devido ao menor custo (SILVA et al., 2016). No entanto, essas não estão totalmente disponíveis para fermentação microbiana no rúmen, isto porque o processo de digestão da fibra é lento e incompleto, atingindo apenas 70% em condições ruminais ótimas de pH e temperatura (ARRIOLA et al., 2017), ou seja, a digestibilidade da fibra ainda limita o aproveitamento dos nutrientes contidos nestes alimentos pelos animais podendo limitar a produção de leite (ZILIO et al., 2019).

Neste contexto, métodos biológicos como o uso de enzimas fibrolíticas é uma biotecnologia que vem sendo estudada para otimizar a digestibilidade ruminal das fibras (ZILIO et al., 2019), refletindo em efeitos positivos no ambiente ruminal como melhora da fermentação ruminal através do aumento da digestibilidade de nutrientes, alteração na proporção dos ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen disponibilizando mais energia para os animais e assim refletindo em aumento da produção de leite, bem como maior disponibilidade de nutrientes para a síntese dos seus componentes (SUJANI; SERESINHE, 2015).

De modo geral, a suplementação com o produto enzimático fibrolítico se mostrou positiva, sugerindo que as vacas leiteiras se tornam mais eficientes, resultando em aumento da produção de leite e sem alterações na sua composição.

Salienta-se que os resultados sobre a utilização de enzimas fibrolíticas para vacas leiteiras, depende de uma série de fatores, o que pode interferir no desempenho dos animais, de tal forma a não afetar significativamente tanto a produção quanto a composição do leite.

6. RESUMO

IMPORTÂNCIA DAS ENZIMAS FIBROLÍTICAS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A utilização de Enzimas digestivas vem ganhando um espaço considerável no setor de pecuária leiteira, com intuito de promover maior desempenho e saúde animal.

Um dos objetivos do uso de enzimas fibrolíticas exógenas é melhorar o valor nutritivo da forragem para ruminantes. O aumento da digestibilidade da fibra usando enzimas exógenas pode levar a melhorias significativas no desempenho de ruminantes em muitas partes do mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Os efeitos das enzimas fibroliticas exógenas são influenciados por muitos fatores tais como tipo e dose da enzima, tipo de dieta administrada aos animais e método de aplicação das enzimas entre outros. Muitas vezes quando vacas leiteiras são alimentadas com tais enzimas, ocorre aumento no consumo de matéria seca, digestibilidade das porções fibrosas, no entanto, nem sempre ocorre aumento na produção de leite ou mesmo melhora na composição química do leite.

Palavras-chave: Aditivo. Bovino. Forragens. Fibra. Energia. Produção de leite.

7. SUMMARY

IMPORTANCE OF FIBROLYTIC ENZYMES IN THE FEEDING OF DAIRY COWS: BIBLIOGRAPHIC REVIEW

The use of digestive enzymes has been gaining considerable space in the dairy sector, with the aim of promoting greater performance and animal health.

One of the goals of using exogenous fibrolytic enzymes is to improve the nutritional value of forage for ruminants. Increasing fiber digestibility using exogenous enzymes can lead to significant improvements in ruminant performance in many parts of the world, particularly in tropical and subtropical regions. The effects of exogenous fibrolytic enzymes are influenced by many factors such as type and dose of enzyme, type of diet administered to animals and method of application of the enzymes, among others. Often when dairy cows are fed with such enzymes, there is an increase in the consumption of dry matter, digestibility of the fibrous portions, however, there is not always an increase in milk production or even an improvement in the chemical composition of the milk.

Key words: Additive. Bovine. Forages. Fiber. Energy. Milk production.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESOGAN, A.T. Improving forage quality and animal performance with fibrolytic enzymes. Proceedings... Florida Ruminant Nutrition Symposium. University of Florida, Gainesville, v.91, p.109, 2005.

ARRIOLA, K. G., A. S. OLIVEIRA, Z. X. MA, I. J. LEAN, M. C. GIURCANU, AND A. T. ADESOGAN. "A Meta-Analysis on the Effect of Dietary Application of Exogenous Fibrolytic Enzymes on the Performance of Dairy Cows." J. Dairy Sci. 100:4513–4527. 2016.

BACHMAN, K.C. Managing milk composition. In: VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J. Large dairy herd management. Champaign: American Dairy Science Association. Cap.35, p.336-346. 1992.

BEAUCHEMIN K.A., COLOMBATTO D., MORGAVI D.P., YANG W.Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve animal feed utilization by ruminants. Journal of Animal Science. v.81(E.Suppl.2), p. E37-E47, 2003.

BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. **Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants**. Canadian Journal of Animal Science, v. 84, p. 13–22, 2004.

BEAUCHEMIN, K.A. et al. Chapter 7: **Enzymes, bacterial direct-fed microbials and yeast: principles for use in ruminant nutrition.** Biology of nutrition in growing animals: Agriculture and Agri-Food Canada, Canada, p. 251-284, 2006.

BEAUCHEMIN, K. A.; HOLTSHAUSEN, L. Developments in enzyme usage in ruminants. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Ed.). **Enzymes in farm animalnutrition.** 2. ed. London, UK, CAB International. p. 206-230. 2011.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M. The potential use of feed enzymes for ruminants. In: **CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS**, 58., 1996. Proceedings... Ithaca: Cornell University, 1996. p.131-141.

BHAT, M.K., HAZELWOOD, G.P. **Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases**. Enzymes in Farm Animal Nutrition. CABI Publishing; Oxon, UK: 2001.

BISARIA, V.S., GHOSE, T.K. Biodegradation of Cellulosic Materials: substrates, microorganisms, enzymes and products. Enzyme Microb. Technol., v.3, p.90-104, 1981.

CAMPESTRINI, T. F.; et al. Entendendo BIM: Uma visão do projeto de construção sob o foco da informação. 1a edição, Curitiba, 2015

COUGHLAN, A.T. and Schmidt, R.M. Executive Compensation, Management Turnover and Firm Performance: An Empirical Investigation. Journal of Accounting and Economics, 7, 43-66, 1985.

FAVELA-TORRES E. et al. **Pectinases. In: Enzyme technology**. New Delhi: Asiatech publisher; p. 273–296. 2005

GANDRA, J. R.; MIRANDA, G. A.; GOES, R. H. T. B.; TAKIYA, C. S.; DEL VALLE, T. A.; OLIVEIRA, E. R.; FREITAS JUNIOR, J. E.; GANDRA, E. R. S.; ARAKI, H. M. C.; SANTOS, A. L. A. V. Fibrolytic enzyme supplementation through ruminal bolus on eating behavior, nutrient digestibility and ruminal fermentation in Jersey heifers fed either corn silage- or sugarcane silage-based diets. Anim. Feed Sci. Technol., 231: 29-37, 2017.

GARCIA DIAZ, T. et al. Leveduras vivas e mananoligossacarídeos para prevenção de acidose ruminal subaguda. Archivos de Zootecnia: Arch. Zootec., Maringá, Brasil, ano 2019, v. 68, ed. 263, p. 456-462, 15 jul. 2019.

GENCOGLU, H., SHAVER, R. D., STEINBERG, W., ENSINK, J., FERRARETTO, L. F., BERTICS, S. J., AKINS, M. S. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. Journal of Dairy Science. v.93, p.723-732, 2010.

HRISTOV, A. N., RODE, L. M., BEAUCHEMIN, K. A., WUERFEL, R. L. Effect of a commercial enzyme preparation on barley silage in vitro and in sacco dry matter degradability. Proceedings... Western Section, American Society of Animal Science, v.47, p.282-284, 2000.

IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. Disponível em: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html >. Acessado em: 25/03/2022

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., 2001, São Pedro. Anais... Manaus: Sonopress. CDROM. Forage Conservation. Papers, ID 21-17, 2001.

JOUANY, J, & MORGAVI, D. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant prodution. Animal, 1(10), 1443-1466, 2007.

KLEEN, J.L. et al. **Subacute ruminal acidosis** (**SARA**): a review. Journal Veterinary Medicine, Series A, v.50, p.406-414, 2003.

KUNG, JR., L.; COHEN, M. A.; RODE, L. M.; TREACHER, R. J. The effect of fibrolytic enzymes desprayed onto forages and fed in a total mixed ratio to lactatingdairy cows. Journal of Dairy Science, v. 85, p. 2396–2402, 2002.

KUNG JR., L. Microbial and chemical additives for silage – effects on fermentation and animal response. In: WORKSHOP SOBRE MILHO PARA SILAGEM, 2000, 2.,Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz". p.53-73, 2000.

LEE-RANGEL H.A., J.M. PINOS-RODRÍGUEZ, G.D. MENDOZA, S.S. GONZÁLEZ, M.A. MONTES, A.S. TREJO, Y. JASSO-PINEDA. Effect of a ruminal buffer and exogenous amylolytic enzymes on growth and digestion in lambs fed high concentrate diets. Journal of Applied Animal Science Res., v.37, p.117-120, 2010.

LEWIS, K.E., Currie, P.D., Roy, S., Schauerte, H., Haffter, P., Ingham, P.W. Control of muscle cell-type specification in the zebrafish embryo by Hedgehog signalling. Dev. Biol. 216, 469 – 480, 1999.

MACHADO, RICARDO DINARTI. **Enzimas exógenas na alimentação de vacas leiteiras**. Orientador: Rodrigo de Almeida. 2019. 52 p. Dissertação (Mestre em Zootecnia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

MAPA (Brasil). **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Acesso em: 28/03/2022. Instrução Normativa 15/2009, Brasil, p. 1-8, 26 maio 2009.

MARTIN, S.A. **Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: a review.** Journal of Animal Science, v.76, p.3123-3132, 1998.

MARTINS, A. S.; VIEIRA, P. F.; BERCHIELLI, T. T.; PRADO, I. N.; MOLETTA, J. L. Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com enzimas fibrolíticas. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 35, p. 2118-2124, 2006.

MARTINS, A. S.; VIEIRA, P. F.; BERCHIELLI, T. T.; PRADO, I. N.; LEMPP, B.; PAULA, M. C. Degradabilidade in situ e observações microscópicas de volumosos em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas exógenas. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, p. 1927-1936, 2007.

MCCARTHY, M. M., M. A. ENGSTROM, E. AZEM, T. F. GRESSLEY. The effect of an exogenous amylase on performance and total-tract digestibility in lactating dairy cows fed a high-byproduct diet. Journal of Dairy Science. v.96, p.3075-3084, 2013.

MELO, G. R. de. **Produção de celulases e xilanases pelo fungo termofílico Humicola grisea var. thermoidea em diferentes substratos lignocelulósicos.** 85 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. Journal of Association Official Analytical Chemistry International, v. 85, p. 1217-1240, 2002.

MORAIS, J. A. da S. BERCHIELLI, T. T; PIRES, A. V.; OLIVEIRA. S. G de. Nutrição de ruminantes. 2. ed. rev. Jaboticabal, SP: Funep. cap. 18, p. 565-599. ISBN 978-85-7805-068-9, 2011.

MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; NSEREKO, V. L.; RODE, L. M.; IWAASA, A. D.; YANG, W. Z.; MCALLISTER, T. A.; WANG, Y. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma*

longibrachiatum. Journal of Dairy Science, v. 83, p. 1310–1321, 2000.

MORGAVI DP, FORANO E, MARTIN C, NEWBOLD CJ. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. Animal 4:1024–1036. 2010.

MUCK, R.E.; KUNG JR., L. Effects of silages additives on ensiling. In: **THE SILAGE: FIELD TO FEED BUNK NORTH AMERICAN CONFERENCE.** Hershey. Proceedings... Hershey: National Regional Agricultural Engineering Service. p.187-1997.

NAGARAJA, T. G. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). **The Rumen Microbial Ecosystem. Blackie Academic & professional,** London. p.523-632. nutrition. Bulg. J. Agric. Sci. 13: 357-374, 1997.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 4ª. Edição, Editora Sarvier. capítulo 7, 2006.

NELSON, D.L. & COX, M. M. Princípios da Bioquímica de Lehninger. 5ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2011.

NHOLD, E., ULHOA, C. J. Produção, caracterização e avaliação de enzimas fibrolíticas na digestibilidade da forragem de milho. Cienc. anim. bras., Goiânia, v.14, n.4, p. 426-435, out./dez. 2013.

OETZEL, G.R. Herd-based biological testing for metabolic disorders. **In: ANNUAL CONFERENCE AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTITIONERS**, 34., 2001, Vancouver, BC. Proceedings... Nancouver: AABP. p.1-12, 2001.

OLIVEIRA, A. S.; DETMANN, E.; CAMPOS, J. M. S.; PINA, D. S.; SOUZA, S. M.;

COSTA, M. G. Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, digestibilidade e o desempenho de vacas leiteiras em lactação. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 40, n. 7, p. 1587-1595, 2011.

OLIVEIRA, Otávio Augusto Martins et al. **Utilização de aditivos modificadores da fermentação ruminal em bovinos de corte**. Revista em agronegócio e meio ambiente, Maringá, v. 12, ed. 1, p. 287-311, jan/mar. 2019.

PERES, C.A. Effects of subsistence hunting on vertebrate community

structure in Amazonian forests. Conserv. Biol. 14:240-253. 2000.

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

SILVA, T. M.; MEDEIROS, A. N. DE; OLIVEIRA, R. L.; GONZAGA NETO, S.; QUEIROGA, R. DE C. R. DO E.; RIBEIRO, R. D. X.; LEÃO, A. G.; BEZERRA, L. R.. Carcass traits and meat quality of crossbred Boer goats fed peanut cake as a substitute for soybean meal. J. Anim. Sci., 94 (7): 2992-300, 2016.

SOUSA, JHONE T. L. de. **Utilização de enzimas exógenas na nutrição de ovinos**. Orientador: Luciano Fernandes Sousa. 2019. 157 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal Tropical) - Universidade federal de Tocantins, Araguaína, TO, 2019.

STRYER, L.; BERG, J.M.; TYMOCZKO, J. L. **Bioquímica. 5.ed**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SUJANI, S.; and SERESINHE, R.T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. Asian Journal of Animal Science, Egito, v.93, n.3, p. 85–99, 2015. TEWOLDEBRHAN T. A.; APPUHAMY J., LEE J. J.; NIU M.; SEO S.; JEONG, S.; KEBREAB, E. Exogenous β-mannanase improves feed conversion efficiency and 515 reduces somatic cell count in dairy cattle. Journal of Dairy Science, Estados Unidos, v.100, n.1, p.244–252, 2017.

VIEIRA, F. DA S.; GOMES, A. V. DA C.; CRESPI, M. P. A. L. DE; COLL, J. F. C.; PESSOA, M. F.; SANTOS, A. L. DA S.; SOARES, T. M.. Digestibility of rabbits diets with different particle size of sugar cane bagasse like fiber source. Revista Universidade Rural. Serie Ciências da Vida, 23 (1): 71-79, 2003.

WATTS, T. W., DUNCAN, G. J., SIEGLER, R. S., & DAVIS-KEAN, P. E. What's past is prologue: Relations between early mathematics knowledge and high school achievement. Educational Researcher, 43(7), 352-360.3, 2014.

WOOLFORD, M.K. The silage fermentation. New York: Marcel Dekker. 322p, 1984.

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, p. 391-403, 1999.

ZEOULA, Lucia Maria et al. **Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos: Uma revisão.** Revista Brasileira de Zootecnia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, Maringá, ano 2008, v. 37, n. 1516-3598, ed. 3, p. 563-571, 2008.

ZILIO, E. M. C., T. A. DEL VALLE, L. G. GHIZZI, C. S. TAKIYA, M. S. S. DIAS, A. T. NUNES, G. G. SILVA, AND F. P. RENNÓ. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. J. Dairy Sci. 102:4179–4189, 2019.