

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO - *CAMPUS* RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CELULASE DE *Humicola grisea* var. *thermoidea* EM RAÇÕES  
PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE UM A 21  
DIAS DE IDADE

Autora: Dênia Oliveira de Souza  
Orientadora: Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Cibele Silva Minafra

Rio Verde – GO  
julho – 2014

CELULASE DE *Humicola grisea* var. *thermoidea* EM RAÇÕES  
PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE UM A 21  
DIAS DE IDADE

Autora: Dênia Oliveira de Souza  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cibele Silva Minafra

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *campus* Rio Verde - Área de concentração Zootecnia.

Rio Verde - GO  
julho – 2014

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO - *CAMPUS* RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CELULASE DE *Humicola grisea* EM RAÇÕES PARA  
FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE UM A 21 DIAS DE  
IDADE

Autora: Dênia Oliveira de Souza  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cibele Silva Minafra

*TITULAÇÃO*: Mestre em Zootecnia – Área de concentração  
Zootecnia – Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

APROVADA em      de      de 2014.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristine dos Santos Settimi Cysneiros  
Santos

*Avaliador externo*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Priscila Alonso dos

*Avaliadora interna*  
IF Goiano/RV

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cibele Silva Minafra  
*Presidente da banca*  
IF Goiano/RV

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por estar sempre presente na minha vida me abençoando e dando forças para trilhar mais uma caminhada.

À minha família, em especial a minha amada mãe Zelques Aparecida e Pai Adeniro Arcanjo, por serem exemplos para mim, pela vida de dedicação, amor e trabalho sempre possibilitaram a seus filhos a oportunidade de realizar sonhos e conquistas.

A minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cibele Silva Minafra por acreditar em mim, mostrar o caminho da ciência, fazer parte da minha vida nos momentos bons e ruins, por ser exemplo de profissional e de mulher.

Ao Prof. Dr. Cirano José Ulhoa e Dr.<sup>a</sup> Cristine dos Santos Settimi Cysneiros, da Universidade Federal do Goiás, por ter cedido a enzima para início da realização deste trabalho.

Agradeço também a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabiana Ramos dos Santos, que sempre se mostrou disposta a me auxiliar quando tive dúvidas.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Priscila Alonso dos Santos, por disponibilizar o laboratório para realização das análises, em especial a Maria Siqueira pela disposição que teve em me auxiliar.

Ao meu namorado Luís Araújo, pela força transmitida, pela paciência e pelo amor demonstrado em todo o caminho que já percorremos juntos. Agradecer-te não é um gesto que se põe em papel, mas algo que se partilha ao longo da vida. No entanto .... OBRIGADA.

À amiga Vanessa Ishikawa, não só pela amizade, carinho e auxílio técnico, mas, principalmente, pelo sorriso e bom humor constantes principalmente nos momentos difíceis.

Aos amigos Sinara Oliveira, Jhonathan Raphael, Polyana Furtado, Aldinéia Barbosa, Alteloir José, pelo carinho, amizade, presença e apoio.

Aos colegas Janaína Borges, Alisson Bastista, Esther Cristina, pelo auxílio técnico. Obrigada.

Aos colegas de Trabalho em especial a Diretora Edivanilda Barbosa, pela compreensão nos momentos de ausência, pela amizade e apoio.

Aos funcionários do Instituto Federal Goiano- *Campus* Rio verde, em especial o senhor Nilton, pela colaboração prestada sempre que solicitada.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação e Mestrado em produção animal, pela amizade e companheirismo em especial ao Francisco Perim.

À FAPEG, pelo apoio financeiro.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Não há virtude, rigorosamente falando, sem vitória sobre nós próprios, e nada vale o que nada nos custa.”

Xavier Maistre

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Dênia Oliveira de Souza, filha de Zelques Aparecida Sousa Oliveira e Adeniro Arcanjo de Oliveira, nascida em Caiapônia-GO em 15 de fevereiro de 1987. Sua formação profissional iniciou em 2006, no curso Zootecnia pela Universidade Federal de Goiás – *Campus Jataí*. Em 2012 iniciou no Mestrado em Zootecnia na área de Produção Animal pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus Rio Verde*, concluindo no ano de 2014.



## ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2.1 Celulose.....	3
2.2 Enzimas exógenas nas formulações das dietas para frango de corte .....	5
2.3 Polissacarídeos não amiláceos .....	7
2.4 Digestão dos Polissacarídeos não amiláceos .....	9
2.5 O fungo <i>Humicola grisea</i> var. <i>Thermoidea</i> .....	11
REFERÊNCIAS .....	12
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS .....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÕES .....	42
REFERÊNCIAS .....	44

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1 Enzimas utilizadas nas rações e seu modo de ação.....	6
TABELA 2 – Composição de diferentes alimentos em polissacarídeos não amiláceos (% da matéria seca) .....	8
TABELA 3. Composição percentual e calculada das rações experimentais para diferentes fases de criação .....	23
TABELA 4. Médias semanais das temperaturas e umidades máximas e mínimas registradas diariamente no galpão experimental.....	28
TABELA 5. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de um a sete dias de idade de frangos alimentados com rações pré-iniciais suplementadas com enzima celulase e rações iniciais suplementadas com enzima celulase aos oito a 21 dias de idade .....	29
TABELA 6. Consumo de nitrogênio da matéria seca (CNMS), nitrogênio excretado na matéria seca (NEXCMS), balanço de nitrogênio (BN), digestibilidade de nitrogênio (DIGN) e retenção de nitrogênio (RETN) das excretas e rações colhidas nos períodos de quatro a sete dias.....	31
TABELA 7. Consumo de nitrogênio da matéria seca (CNMS), nitrogênio excretado na matéria seca (NEXCMS), balanço de nitrogênio (BN), digestibilidade de nitrogênio (DIGN) e retenção de nitrogênio (RETN) das excretas e rações colhidas nos períodos de 14 a 17 dias .....	32
TABELA 8. . Biometria dos órgãos digestivos (peso relativo) de frangos de corte com sete, 14 e 21 dias alimentados com suplementação de celulase. Comprimento do trato gastrointestinal (TGIMETRO), peso do trato gastrointestinal (TGIPESO), peso do esôfago + papo (ESOP), peso do pró-ventrículo + moela (PROME), peso pâncreas (PANC) , peso fígado (FIG), peso intestino delgado (ID), peso do intestino grosso (IG).....	33

TABELA 9- Peso absoluto do pâncreas e concentração de amilase no pâncreas (UI/dL) de frangos de corte no período de sete, 14 e 21 dias de idade alimentados com suplementação de celulase .....35

TABELA 10. Peso absoluto do fígado, concentração de proteína e atividade das enzimas fosfatase alcalina (FA), glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) e glutamato-piruvato transaminase (GPT) no fígado de frangos de corte nas fases pré-inicial e inicial.....37

TABELA 11. Concentrações de cálcio (Ca), fósforo (P), cloro (Cl), potássio (K), proteína (Prot) e fosfatase alcalina (FA) no soro de frangos de corte no período de sete, 14 e 21 dias com dietas suplementadas com celulase.....39

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Representação da parede celular da planta parede com sua estrutura de miofibrilas cristalina de celulose revestida por hemicelulose e lignina.....	3
FIGURA 2: Estrutura da celulose.....	4
FIGURA 3: Ação da celulase sobre a molécula de celulose. ....	5

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACIONES E UNIDADES

%	Porcentagem
<	Menor que
AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
dL	decilitro
FPU	Unidades de Papel filtro
g	gramas
Kg	Quilo
mg	miligrama
mL	mililitros
mmol	milimol
PNA's	Polissacarídeos não amiláceos
rpm	Rotações por minuto
MOS	Mananoligossacarídeos
CE	Complexo Enzimático
ton	Toneladas
UI	Unidade internacional

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a adição de uma celulase líquida produzida pelo micro-organismo *Humicola grisea* com atividade de FPASE de 3,798 U/mL na dieta de frangos de corte, da linhagem Cobb, de um a 21 dias de idade. Os tratamentos consistiram de ração controle composta por milho e farelo de soja e tratamentos com acréscimo de 500 mL/ ton e 1000 mL/ ton de celulase. Foram utilizados 180 frangos de corte, distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso, com três tratamentos, seis repetições de 10 aves cada. Os animais receberam dietas e água à vontade durante todo período experimental. Não foram observados efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para desempenho dos animais de sete, 14 e 21 dias de idade. Foram observados efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para digestibilidade apenas para período de quatro a sete dias com diminuição no consumo de nitrogênio na matéria seca e para digestibilidade de nitrogênio para as aves alimentadas com presença de celulase. Para biometria dos órgãos digestórios, houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) aos sete dias somente para intestino grosso. Não houve efeito significativo para peso absoluto do fígado e do pâncreas e nem para as enzimas amilase, fosfatase alcalina e transaminases, indicando que a celulase não afetou o metabolismo destes órgãos. No soro, não houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) nem para eletrólitos nem para proteína total e enzima fosfatase alcalina. A celulase não afetou o desempenho e o metabolismo de frangos de corte de um a 21 dias de idade.

**Palavras-chave:** aves de corte, desempenho, enzimas fibrolítica

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the addition of a liquid cellulase produced by *Humicola grisea* microorganism. with FPU activity of 3,798 U / mL<sup>-1</sup> in the diet of broiler chickens of Cobb lineage, from 1 to 21 days of age. Treatments consisted of a control diet consisting of corn and soybean meal and treatments with addition of 500 mL / ton<sup>-1</sup> and 1000 mL / ton<sup>-1</sup> of cellulase. 180 broilers were distributed in a completely randomized design with three treatments and six replicates of 10 birds each. The animals were fed diets and water ad libitum throughout the experimental period. No significant effect (P <0.05) for the performance at 7, 14 and 21 days old were observed. Significant effects (P <0.05) of digestibility were observed from four to seven days with decreased values with the presence of cellulase for consumption and dry matter digestibility. To biometry of the digestive organs, there was a significant effect (P <0.05) at seven days only for the large intestine. There wasn't significant effect for absolute weight of the liver and pancreas and for amylase, alkaline phosphatase and transaminases enzymes, indicating that the cellulase didn't affect the metabolism of these organs. In serum, there wasn't significant effect (P <0.05) neither for electrolytes nor for total protein and alkaline phosphatase enzyme. The cellulase didn't affect the performance and metabolism of broiler chickens from one to 21 days of age.

**Key words:** broilers, performance, fibrolytic enzymes

## INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, a avicultura brasileira percorreu um grande espaço por meio de vários avanços, nas áreas do melhoramento genético, sanidade, nutrição e manejo, transformando num dos segmentos do agronegócio nacional mais desenvolvido e conhecido no mundo inteiro, possibilitando a consolidação e a abertura de novos mercados.

A utilização de enzimas na produção de aves é amplamente aceita e embasada cientificamente, pois, dependendo do tipo de enzima utilizada, podem ser observadas melhorias no desempenho, digestibilidade dos nutrientes, morfometria e saúde intestinal (MENEGETTI et al.,2013).

A produção de frangos de corte passou por fortes transformações nas últimas décadas, obtendo melhora na eficiência de produção. Os grandes avanços do setor avícola, aliados ao clima propício a produção de grãos, utilizados na alimentação das aves, tornou o Brasil o terceiro maior produtor (atrás dos Estados Unidos e da China) e o maior exportador de frangos de corte do mundo. De acordo com o relatório anual 2013 da União Brasileira de Avicultura (UBABEF, 2013), aproximadamente 38% de toda a carne de frango exportada no mundo em 2012 tiveram origem no Brasil. Essa consolidação de grande produtor de carne de frango é reflexo da eficiência na nutrição, manejo, genética e ambiente, gerando uma proteína animal de qualidade e acessível a maioria dos consumidores.

Segundo TOLEDO et al. (2007), a variável alimentação representa cerca de dois terços do custo de produção de frangos de corte, e constantes esforços então têm sido



realizados a fim de buscar alternativas que permitam melhorar a eficiência no uso da ração e, portanto, reduzir seus custos de produção.

Dentre essas alternativas, o uso de aditivos na alimentação (MINAFRA et al., 2010), como as enzimas exógenas, buscando melhorar os índices zootécnicos dos lotes, tem sido feito já algumas décadas.

Vários fatores influenciam as respostas encontradas na literatura com o uso de enzimas específicas para PNA's em rações com milho e farelo de soja, como: qualidade e composição dos ingredientes, forma de processamento da ração, presença de ácidos orgânicos e acidificantes como moduladores de pH, nível de energia e de nutrientes na ração basal, idade das aves, atividade única ou multienzimática, dose utilizada e presença da enzima fitase (AFTA, 2012)

Segundo GONZALES (2011), as enzimas exógenas adicionadas às rações de animais visam quatro objetivos distintos, que são: a remoção ou hidrólise de fatores antinutricionais; o aumento da digestibilidade dos nutrientes; a quebra dos polissacarídeos não amiláceos (PNA's) e, a suplementação das enzimas endógenas.

Por muito tempo, o emprego de enzimas na nutrição animal foi de importância secundária e atualmente os preparados enzimáticos são produzidos especificamente para alimentos destinados aos animais. Deve-se ressaltar a importância do conhecimento dos processos de aplicação, a qualidade desses produtos, a segurança para os seres humanos e animais assim como a proteção do meio ambiente (MARQUES, 2007).

Segundo SLOMINSKI (2011), nos últimos anos tem havido esforço concentrado para melhorar o valor nutritivo dos alimentos usando enzimas exógenas, entendendo que o milho, o farelo de soja e outros ingredientes comumente utilizados em dietas de aves podem ser potencializados através da adição adequada de complexo multienzimático.

Assim, enzimas exógenas têm como finalidade melhorar a eficiência de utilização dos alimentos, contribuindo para melhor uso de ingredientes de baixo custo para alimentação animal, e contribuem para a diminuição da viscosidade da digesta, melhorando a ação das enzimas endógenas sobre os substratos específicos (RIBEIRO et al., 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a adição de celulase produzida pelo microrganismo *Humicola grisea* na alimentação de frangos de corte de um a 21 dias de

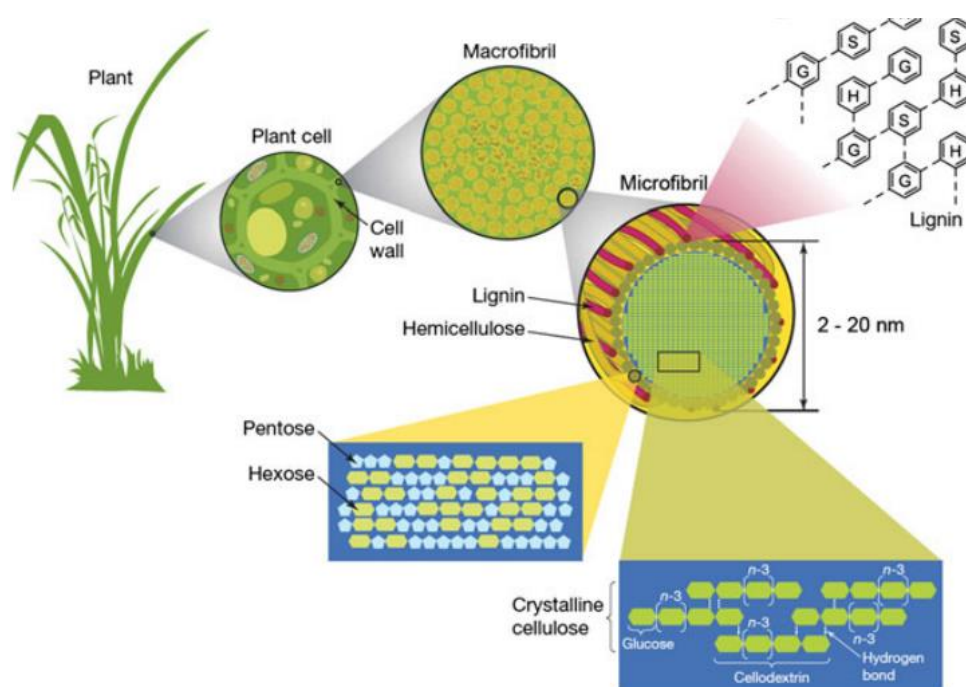
idade em dietas compostas por milho e farelo de soja sobre desempenho, parâmetros sanguíneos e biometria dos órgãos digestivos e digestibilidade.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

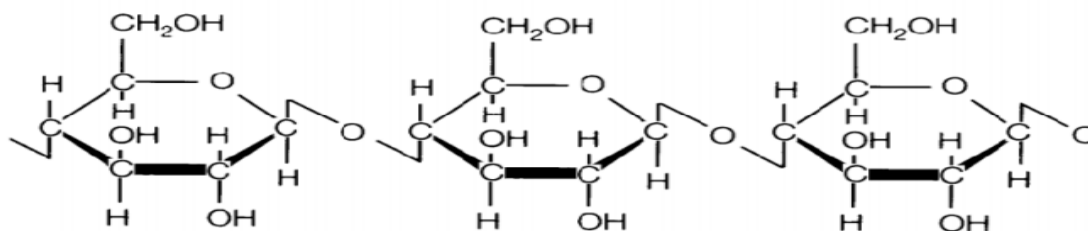
### 2.1 Celulases

Parede celular de plantas é composta por uma variedade de estruturas polissacarídeos, que podem ser agrupados em celulose, hemiceluloses, e polissacarídeos pécicos (Figura 1). A celulose é o principal constituinte nos materiais lignocelulósicos, na qual é formada por anéis de  $\beta$ -D-glicopiranosose que são ligadas entre si por ligações do tipo  $\beta$ -D-(1,4) glicosídicas, de fórmula ( $C_6H_{10}O_5$ ), é um polímero natural sendo um homopolissacarídeo linear em que a celobiose é a unidade repetitiva conforme mostra a Figura 2. As celulasas são biocatalisadores altamente específicos que atuam em sinergia na hidrólise de materiais lignocelulósicos (CASTRO;PEREIRA, 2010).

**Figura 1:** Representação da parede celular da planta com sua estrutura de microfibrilas cristalina de celulose revestida por hemicelulose e lignina



Fonte: MORAN-MIRABAL, (2013).

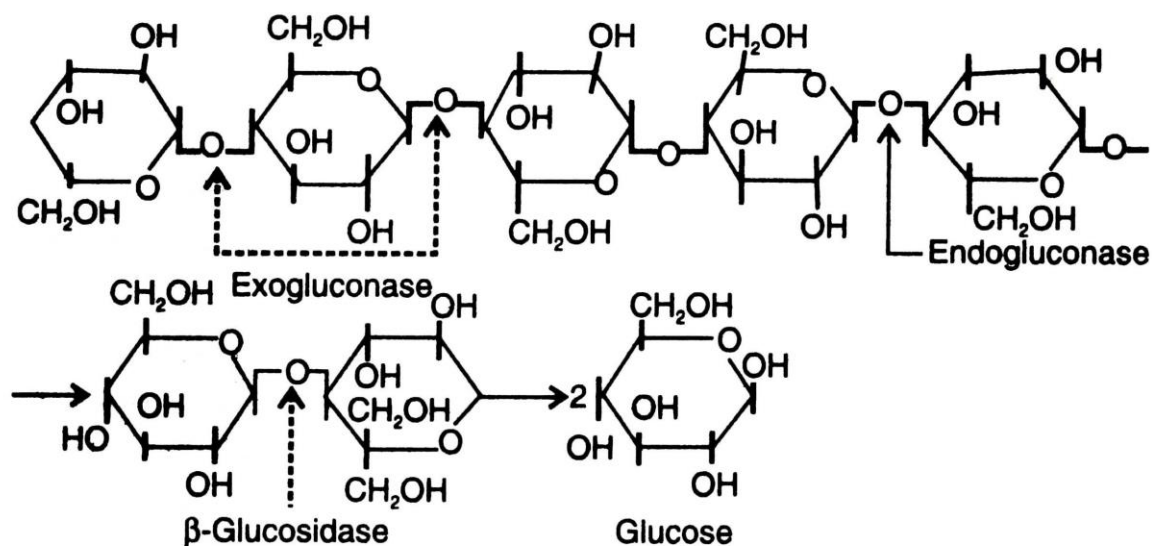
**Figura 2:** Estrutura da celulose

Fonte: ACHARY & CHAUDHARY (2012).

Assim, possui configuração alongada e se agrega lado a lado formando microfibrilas insolúveis unidas por fortes ligações inter e intramoleculares como as pontes de hidrogênio, geralmente associada à lignina, apresentando-se insolúvel em meio alcalino, mas solúvel em meio ácido. A relação lignina/celulose determina a intensidade de degradação microbiana da parede celular, igualmente condicionada pela presença de outras substâncias incrustantes como a sílica e a cutina, além de fatores macromoleculares intrínsecos da própria celulose, como a cristalinidade e especificidade de suas ligações químicas, tanto para ruminantes como em não ruminantes (VAN SOEST, 1994; BRETT & WALDRON, 1996).

Celulases comerciais são produzidas principalmente de fungos, os estudos sobre a ação dos componentes das celulases têm mostrado que esse complexo enzimático é constituído pelo conjunto de três enzimas hidrolíticas (figura 2): as endo- $\beta$ -1-4-glucanases, que hidrolisam as ligações glicosídicas ao acaso na fibra de celulose; as exo  $\beta$ -1-4-glucanases ou celobiohidrolases, que agem nas extremidades reductoras e não reductoras de polímeros gerados pela ação das endoglucanases, liberando celobioses; e as  $\beta$ -1-4-glicosidases que hidrolisam oligossacarídeos e celobiose à glicose. Estes três componentes atuam de forma sinérgica na hidrólise de celulose (ACHARYA & CHAUDHARY, 2012).

**Figura 3:** Ação da celulase sobre a molécula de celulose



Fonte:

[http://www.eplantscience.com/index/biotechnology/biotechnology\\_and\\_environment/biomass\\_a\\_renewable\\_source\\_of\\_energy/biotech\\_biomass\\_conversion.php](http://www.eplantscience.com/index/biotechnology/biotechnology_and_environment/biomass_a_renewable_source_of_energy/biotech_biomass_conversion.php)

As celulasas são utilizadas na alimentação animal como aditivo para silagem e em dietas para ruminantes. Em dietas para monogástrico, a celulase, em associação com a xilanase, valoriza cereais ricos em polissacarídeos não amídicos e ainda diminuem problemas de sua administração a estes animais (DILLON, 2004).

## 2.2 Enzimas exógenas nas formulações das dietas para frangos de corte

Pelas características que lhes são conferidas, as enzimas exógenas vêm sendo estudadas a fim de melhorar a qualidade nutricional dos grãos com a degradação dos polissacarídeos estruturais e possibilitar a diminuição dos níveis nutricionais da ração com possíveis vantagens econômicas (PEREIRA et al., 2010). Segundo BERTECHINI & BRITO (2007), existem duas abordagens econômicas ao considerar a incorporação de enzimas exógenas nas formulações das dietas. Uma aplicação mais simples e provavelmente mais prática, chamada de over the top (por cima) com intuito de melhorar o desempenho de forma mais econômica, consiste em adicionar enzimas em formulação padrão, sem alterar os níveis nutricionais. A segunda alternativa seria alterar a formulação da ração reduzindo os nutrientes e adicionando enzimas exógenas para restaurar o valor nutricional da dieta-padrão, visando o mesmo desempenho.

A produção animal tem como princípio transformar alimentos de baixo valor nutricional e menos palatáveis em alimentos de alto valor nutritivo. Nessa área, a avicultura pode ser considerada uma das atividades que mais tem evoluído,

possibilitando à indústria avícola enorme capacidade para prover os consumidores de fontes proteicas saudáveis a baixo custo. Este êxito na produção avícola é resultado da integração e dos avanços nas áreas de melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo. Na nutrição, estratégias como o processamento das rações e a utilização de aditivos alimentares são alternativas com a finalidade de melhorar e garantir o fornecimento e o aproveitamento adequado dos nutrientes contidos nas rações, visando melhorar o desempenho das aves (PUCCI et al., 2010).

Para SOUZA et al., (2008), a utilização de várias enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja, para aves, já é realidade e tem como objetivo de complementar as enzimas endógenas produzidas, aumentando a digestibilidade dos demais nutrientes, e como consequência, melhorando o desempenho.

No mercado, as principais enzimas disponíveis são as carboidrases, proteases e a fitase (FORTES, 2010). Na tabela 1, são apresentadas as enzimas utilizadas na alimentação animal. As carboidrases compreendem as amilases, pectinases,  $\beta$ -glucanases, arabinoxilanases, celulasas e hemicelulasas, cujos substratos são, respectivamente, o amido, pectinas,  $\beta$ -glucanos, arabinoxilanos, celulose e hemicelulose. As proteases, por sua vez, incluem as proteases ácidas e alcalinas cujos substratos específicos são as proteínas (MURAKAMI, 2007).

**TABELA 1** – Enzimas utilizadas nas rações e seu modo de ação.

Enzima	Substrato	Efeitos
Xilanase	Arabinoxilanos	Redução da viscosidade da digesta.
Glucanases	B- Glucanos	Redução da viscosidade da digesta Diminuição na umidade da Cama.
Pectinases	Pectinas	Redução da viscosidade da digesta.
Celulasas	Celulose	Degradação da celulose e liberação de nutrientes.
Galactosidades	Galactosídios	Remoção dos galactosídios.
Fitases	Ácido Fítico	Melhor utilização do fósforo dos vegetais. Remoção do ácido fítico.
Proteases	Proteínas	Suplementação de enzimas endógenas. Degradação mais eficiente da Proteína.
Amilases	Amido	Suplementação de enzimas endógenas. Degradação mais eficiente do amido.
Lipases	Lipídios e Ácidos Graxos	Melhor utilização de gorduras animais e vegetais

Fonte: Adaptado de Forte, 2010.

PUCCI et al., (2003), citam que as enzimas exógenas adicionadas às rações visam remover ou hidrolisar fatores antinutricionais como os polissacarídeos não

amiláceos (PNA's), minimizar a excreção de nutrientes não digestíveis no meio ambiente, diminuindo o impacto ambiental da cadeia produtiva, também é uma grande vantagem atribuída ao uso de enzimas na nutrição avícola.

Os animais monogástricos não possuem a capacidade enzimática de digerir celulose, arabinosilano, beta-glucanos, pectinas, entre outros, chamados polissacarídeos não amiláceos (ZANELLA, 2001). PENZ (1998) confirma que, além da baixa digestibilidade, esses polissacarídeos ou fibras não amiláceas representam problema para os animais, pois quando não digeridos aumentam a viscosidade do quimo intestinal, causando prejuízos no desempenho das aves, diminuindo a velocidade de passagem dos alimentos ao longo do trato digestivo, dificultando a ação das enzimas endógenas e interferindo na difusão ou transporte dos nutrientes.

### **2.3 Polissacarídeos não amiláceos**

Nos alimentos de origem vegetal, os polissacarídeos não amiláceos (PNA's) são os principais constituintes da parede celular e existem em várias formas na natureza (CHOCT, 1997). Consistem em polímeros de monossacarídeos ou açúcares simples unidos por uma ligação específica chamada ligação glicosídica, que é formada entre o grupo hemiacetal de um açúcar e o grupo hidroxila do outro, e são classificados segundo considerações estruturais e propriedades físico-químicas (MOURINHO, 2006).

Os polissacarídeos não amiláceos compreendem uma ampla classe de polissacarídeos como celulose, hemicelulose, quitina e pectinas os quais podem diminuir o desempenho animal, dependendo de suas concentrações. Estes não podem ser degradados por enzimas endógenas, afetam a digestibilidade de nutrientes e modificam o tempo de permanência do alimento no trato digestivo, e são classificados como polímeros de açúcares simples, pela natureza das cadeias de ligações das unidades de açúcares que são resistentes a hidrólise no trato gastrointestinal dos animais não ruminantes (HONG et al., 2002).

Segundo MURAKAMI (2007) os polissacarídeos não amiláceos fazem parte da parede celular e consistem principalmente de pentoses, rafinose, estaquiose e sacarose, encontradas nas sementes de oleaginosas como também os beta-glucanos que se encontram em altas concentrações na cevada e aveia e pentosanas como as arabinosilanas, que são encontradas no trigo, triticale e centeio. As sementes de oleaginosas, como a soja e a canola, os grãos de cereais com os seus respectivos subprodutos, tais como os farelos de arroz e de trigo, apresentam em sua composição.

Os grãos de cereais não contêm apenas amido. Outros polissacarídeos fazem parte da sua constituição, principalmente os presentes na parede celular, os quais são chamados de polissacarídeos não amídicos (PNA) ou genericamente de fibras. De acordo com CONTE et al. (2003), pela natureza das cadeias de ligações das unidades de açúcar, os polissacarídeos não amiláceos são resistentes à hidrólise no trato digestório.

Segundo DIAS et al., (1994) as fibras são constituintes normais da parede celular e sua presença confere rigidez, firmeza e textura aos alimentos. Dependendo da solubilidade as fibras são classificadas em solúveis e insolúveis. As fibras insolúveis são a celulose, a lignina e algumas hemiceluloses.

O estudo dos PNA's pode se confundir com os estudos relacionados à fibra bruta e também à fibra em detergente neutro e ácido, pois com exceção da lignina, a hemicelulose e a celulose fazem parte dos PNA's (MEURER & HAYASHI, 2003).

Uma das dificuldades encontradas no estudo de PNA's é justamente a quantidade, variabilidade da natureza destes carboidratos, a sua influência nos processos digestivos e, portanto, no desempenho dos animais (LECZNIESKI, 2006).

Na tabela 2, estão inseridos alguns alimentos e com sua porcentagem de PNA's na matéria seca.

**TABELA 2** – Composição de diferentes alimentos em polissacarídeos não amiláceos (% da matéria seca)

Alimento	Celulose	Arabinose	Xilose	Manose	Acido Urônico	Galactose
Cevada	4,3	2,8	5,3	0,3	0,4	0,2
Milho	2,2	2,0	2,7	0,3	0,7	0,5
Sorgo	2,2	2,0	0,9	0,9	1,3	0,2
Trigo	2,0	3,1	4,8	0,3	0,4	0,4
Canola*	5,9	4,3	1,7	0,4	4,8	1,8
Soja*	6,2	2,3	1,8	0,9	3,7	3,5
Aveia	8,2	1,8	8,0	0,3	1,0	0,7

\* Farelo

Fonte: Adaptado de CHOCT (1997).

Apesar da digestibilidade de nutrientes do milho e do farelo de soja ser considerada alta, mesmo assim, uma parte significativa deixa de ser aproveitada, ou mesmo, tem efeito antinutricional em toda a fisiologia digestiva das aves. O milho é considerado um cereal uniforme, porém, com os avanços da biotecnologia, modificaram suas características ligadas à composição e textura. Normalmente os milhos com maiores teores de amilopectina possuem a fração amido mais hidrossolúvel e com melhor facilidade de digestão. Além do amido, outros carboidratos como os PNA's

(polissacarídeos não amiláceos solúveis) e oligossacarídeos estão presentes no milho e normalmente não são utilizados (BERTECHINI & BRITO 2007).

## **2.4 Digestão dos Polissacarídeos não amiláceos**

A digestão dos PNA's é variável, em virtude da ausência de enzimas digestivas. Entretanto podem ser hidrolisados por enzimas produzidas pela microflora cecal ou por suplementação das dietas com enzimas específicas. Nas aves, é nos cecos que esses carboidratos são digeridos e transformados em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e gases (SILVA & SMITHARD, 2002). Os AGCC são produzidos durante a fermentação e incluem o butirato, acetato, lactato, propionato, valerato e isovalerato. Um dos benefícios dessa fermentação para aves é a redução do pH, que inibe algumas bactérias patogênicas pela dissipação de prótons por meio da membrana celular bacteriana (JÓZEFIAK et al., 2004).

Além da baixa digestibilidade, a alta inclusão desses carboidratos pode causar aumento da viscosidade intestinal e conseqüentemente reduzir a digestibilidade de outros componentes da dieta, comprometendo o desempenho dos animais (CONTE et al., 2003). E em ambiente viscoso, os nutrientes como as gorduras, amido e proteínas, se tornam menos acessíveis e disponíveis as enzimas endógenas. Essa viscosidade diminui a taxa de difusão de substratos e enzimas digestivas e impede suas interações na superfície da mucosa intestinal, levando ao comprometimento da digestão e da absorção de nutrientes (CHOCT, 2001). Também, possuem forte capacidade de ligação iônica com elementos minerais fazendo com que as dietas ricas em fibra interfiram negativamente na absorção de minerais (ARRUDA et al., 2003). Além disso, viscosidade da digesta interfere na microflora intestinal e nas funções fisiológicas do intestino. O resultado disto é baixa digestibilidade destes nutrientes e a elevada viscosidade deste bolo alimentar aumenta a quantidade de fezes úmidas (CHOCT et al., 2004).

Nestas dietas de alta viscosidade, as enzimas adicionadas atuam reduzindo a viscosidade da digesta, degradando os complexos e fibras solúveis responsáveis em causar a viscosidade, ocorrendo otimização da digestão dos nutrientes, diminuição no consumo de água, e no índice de umidade da cama (FORTES, 2010).



Também, mediante a decomposição da fibra presente nas paredes celulares pela adição de enzimas, a facilitação ao acesso das enzimas endógenas aos nutrientes encapsulados dentro destas paredes ricas em fibra. A diminuição da viscosidade ocorre pela degradação das arabinoxilanas solúveis das paredes celulares dos grãos, aumentando assim a digestibilidade de todos os nutrientes. Para dietas à base de cereais de alta viscosidade como a cevada, centeio, trigo e triticale, geralmente os complexos enzimáticos são compostos por carboidrases (glucanases, amilases, xilanases, arabinoxilanas, celulasas e hemicelulasas) (PEREIRA et al., 2010).

De acordo com MARSMAN et al. (1997), o uso de enzimas como celulasas e proteases em dietas formuladas com soja extrusada ou soja tostada para frangos de corte aumentou a digestibilidade da proteína bruta e dos polissacarídeos não amídicos (PNA's).

Já LEITE (2009) constatou que a inclusão de enzimas exógenas aumenta a digestibilidade dos nutrientes da ração e degrada os PNA's presentes na parede celular dos vegetais diminuindo a quantidade de substrato, resultando em alteração na quantidade e a composição da população microbiana no intestino.

Segundo OLIVEIRA et al., (2007) a inclusão de enzimas que degradem a celulose e o amido seria ferramenta útil para aumentar o teor de energia das dietas e melhorar o desempenho das aves. Em seu experimento avaliaram a digestibilidade ileal, a retenção de nutrientes e os valores energéticos de dietas contendo mananoligossacarídeos (MOS) e ou complexo enzimático (CE), à base de celulase, protease e  $\alpha$ -amilase para frangos de corte. Observou-se que a interação MOS X CE foi significativa para retenção de proteína bruta e para energia metabolizável aparente, de modo que os valores obtidos em aves alimentadas com dietas contendo os dois aditivos foram superiores aos encontrados nos demais tratamentos (dieta com MOS, CE ou antibiótico). Em comparação aos resultados obtidos com a dieta contendo antibióticos, os valores de energia digestível (ileal) das dietas suplementadas com MOS ou MOS e CE foram superiores em até 7,25 % com base na matéria seca. A inclusão de CE melhorou a retenção de matéria seca e os coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca, proteína bruta, cálcio e fósforo. Os resultados das dietas contendo MOS e ou CE foram superiores aos obtidos com a dieta com antibiótico.

YAMAZAKI et al., (2007), utilizando dietas de menor nível proteico, avaliaram os efeitos da celulase no desempenho, excreção de nitrogênio, deposição de gordura e atividade lipogênica e lipolítica de enzimas hepáticas em frangos de corte machos.

Avaliou-se o desempenho nas fases dos sete aos 21 e dos 21 ao 42 dias. Na fase inicial, as dietas continham 21 e 19% de proteína bruta, dos 21 aos 42 dias 17 e 15 % de proteína bruta, as dietas de baixa proteína foram suplementadas com aminoácidos sintéticos; outro tratamento consistiu na adição de 1000 U/kg de celulase à dieta de baixa proteína. Não houve alteração do desempenho nem diferença na deposição de gordura das aves em nenhuma das fases estudadas para a dieta de baixa proteína suplementada com aminoácido e enzimas. A adição de enzimas não teve efeito no desempenho nem na atividade das enzimas hepáticas.

## **2.5 O fungo *Humicola grisea* var. *Thermoidea***

Os microrganismos têm alto poder de multiplicação, são adaptáveis a vários meios nutricionais e sintetizam uma variedade de substâncias químicas, dentre elas as enzimas (ANDREAUS, 2002).

Os fungos filamentosos têm sido manipulados geneticamente para produção de metabólitos de interesse industrial, com elevada produtividade. Esses microrganismos são muito aplicados pela facilidade de crescimento sob diferentes condições nutritivas, utilizando substâncias de baixo custo (AZEVEDO, 2004).

Enzimas fibrolíticas exógenas são produzidas por cultura específica de bactérias ou fungos. São essenciais aos animais por estarem envolvidas na hidrólise dos componentes complexos das dietas em moléculas orgânicas mais simples como glicose, celobiose, xilose, aminoácidos, ácidos graxos, que são então usadas pelos microrganismos do rúmen e/ou pelo animal.

Melhoras no desempenho dos ruminantes por causa do uso de enzimas fibrolíticas são atribuídas principalmente a maior degradação da fibra no rúmen, resultando em aumento da ingestão de energia disponível pelos animais.

O fungo *H. grisea* var. *thermoidea* apresenta a seguinte classificação taxonômica: Fungi, Eumycota, Deuteromiceta, Hypomicetidae, Moniliales, Dermatiaceae, *Humicola*, *Humicola grisea* var. *thermoidea* (ARAÚJO et al., 1983).

A colônia apresenta cor acinzentada (anverso), daí o nome *grisea*, fundo branco (reverso), em meio de esporulação (Meio Agar Aveia completo – MAAC), aspecto filamentosos e plano; na microscopia exhibe conidióforos simples ou pouco ramificados, com aleuriosporos com esporos arredondados (conídios unicelulares globosos).

Os fungos da espécie são organismos heterotróficos e saprofíticos, que decompõem a celulose, hemicelulose amido, gomas vegetais e parafinas presentes em substratos naturais como a lignocelulose, componente maior da biomassa vegetal. Crescem a expensas dos produtos de degradação (açúcares e radicais), incorporando as moléculas nutricionais e adquirindo massa proteica (micélio). São aeróbicos, dependentes de componentes orgânicos e inorgânicos (substâncias nitrogenadas, sais minerais – fosfatos e sulfatos de potássio, magnésio, ferro, zinco, manganês, principalmente), com requerimento de tiamina e ácido pantotênico (ARAÚJO et al., 1983).

O fungo é um microrganismo extremófilo, termofílico (thermoidea) e cresce entre 20 e 50°C (ideal 40-42 °C) e pH entre 5,0 e 7,0. Com base em trabalhos realizados no Brasil com linhagens obtidas a partir desse isolado, o microrganismo *H. grisea* tem capacidade de produzir várias enzimas termoestáveis - celulasas,  $\beta$ -glicosidases, xilanases, amilases, trealases,  $\beta$ -xilosidase – com aplicações em processos biotecnológicos (ALMEIDA et al., 1995; CARVALHO et al., 2003; DE PAULA et al., 1999; PERALTA et al., 1997).

## REFERÊNCIAS

- ACHARYA, S. CHAUDHARY, A. **Bioprospecting thermophiles for cellulase production: a review**. Brazilian Journal of Microbiology (2012): 844-856
- AFTA, U., 2012. **Exogenous carboydrases in cor-soy diets for broilers**. World´s Poultry Science.68,447-464.
- ARRUDA, A. M. V. et al. **Importância da fibra na nutrição de coelhos**. Semina: Ciências Agrárias, v. 24, n. 1, p. 181-190, 2003.
- BERTECHINI, A.G.; BRITO, J.A.G. **Utilização Correta de Enzima em Rações de Aves**. Disponível em:<http://www.aveworld.com.br/index.php?documento=1337>. Acessado dia 20/06/2014.
- BRETT C.T. & WALDRON K.W. 1996. **Physiology and biochemistry of plant cell walls**. 2th ed. Cambridge C&H Books.
- Biomassa: uma fonte renovável de energia. Biocyclopedia all about biology. Disponível em: [http://www.eplantscience.com/index/biotechnology/biotechnology\\_and\\_environment/biomass\\_a\\_renewable\\_source\\_of\\_energy/biotech\\_biomass\\_conversion.php](http://www.eplantscience.com/index/biotechnology/biotechnology_and_environment/biomass_a_renewable_source_of_energy/biotech_biomass_conversion.php). Acessado em: 20/05/2014.
- CASTRO, A. M.; PEREIRA Jr., N. **Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais**. Química Nova, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.
- CHOCT M., KOCHER A., WATERS D.L.E., ET AL. 2004. **A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens**. Brit. J. Nut. 92:53-61.
- CHOCT, M. **Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals**. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Eds.) Enzymes in farm animal nutrition. Oxfordshire: Cab Publishing, 2001. 406p.

CHOCT, M. **Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance.** Feed Milling International. June: 13-26. 1997.

CLEÓPHAS, G.M.L., Van HARTINGSVELDT, W., SOMERS, W.A.C. et al. 1995. **Enzymes can play an important role in poultry nutrition.** World Poultry Science., 11(4):12-15.

CONTE, A.J. **Efeito da fitase e xilanase sobre a energia metabolizável do farelo de arroz integral em frangos de corte.** Ciência Agrotecnológica, Lavras, v. 26, n.6, p. 1289-1296, 2003.

DIAS, L.C.G.D.; REYES, F.; CAMARGO, J.L.V.; RODRIGUES, M.A.M. **Conteúdo de celulose, hemicelulose e lignina no farelo de arroz fresco.** Revista de Nutrição, Campinas, v.7, n.1, p.62-70, 1994.

DILLON, A. J. P. Celulase. In: SAID, S. & PIETROR. C. R. L. **Enzimas como agentes biotecnológicos.** Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004. cap. 14, p. 241-268.

FORTES, B. D. A. **Avaliação de programa nutricional com a utilização de enzimas em rações para frangos de corte.** 2010. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

GONZALES, E. **Aditivos para rações de aves e suínos**, 3.ed., Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ-UNESP, 2011. 183 p. [Apostila].

HONG, D.; BURROWS, H.; ADEOLA, O. **Addition of enzyme to starter and grower diets for ducks.** Poultry Science, v.81, n.12, p.1842-1849, 2002.

JÓZEFIAK, D.; RUTKOWSKI, A.; MARTIN, S.A. **Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review.** Animal Feed Science and Technology, v.113, n.1, p.1-15, 2004.

LECZNIESKI, J.L. **Considerações práticas do uso de enzimas.** In: V Seminário Internacional de Aves e Suínos - AveSui 2006. 2006. Florianópolis. Anais... Florianópolis. 2006.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica.** 3.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 725p.

LEITE, P. R. S. C. **Digestibilidade dos nutrientes da ração e desempenho de frangos de corte alimentados com rações formuladas com milho ou sorgo e suplementadas com enzimas.** Revista Brasileira de zootecnia, 2011.

MARQUES, F. F. S. **Biologia Enzimática: Produção de Complexo Multienzimático de Trichoderma harzianum e sua aplicação na alimentação de frango de corte.** p. 96, **Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)** – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

MARSMANN G. J.; et al. **The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibility, and chyme**

**characteristics in broiler chicks.** Poultry Science, Champaign, v.76, n.6, p.864-872, 1997.

MENEGHETTI, C. **Associação de enzimas em rações para frangos de corte** . 2013. 93 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras 2013.

MEURER, F.; HAYASHI, C. **Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de peixes – revisão.** Arquivo. Ciência. Veteriária. Zool. UNIPAR, 6 (2): p. 127-138, 2003.

MINAFRA; C. S.; MARQUES; S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C, J.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, J. S.; MORAES, G. H. K. **Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa-MG, v. 39, n. 12, p. 2991-2996, 2010.

MOURINHO, F.L. **Avaliação nutricional da casca de soja com ou sem adição de complexo enzimático para leitões na fase de creche.** 55 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

MORAN-MIRABAL J.M. **Study of cellulase-cellulose interactions through fluorescence microscopy techniques.** Cellulose. 2013In Press.

MURAKAMI, A. E.; *et al.* **Efeito da suplementação enzimática no desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais.** Acta Scientiarum, Maringá, v.29, n.2, p.165-172, 2007.

OLIVEIRA, M.C.; CANCHERINI, L.C.; GRAVENA, R.A.; RIZZO, P.V. *et al.* **Utilização de nutrientes de dietas contendo mananoligossacarídeo e/ou complexo enzimático para frangos de corte.** Rev. Bras. Zootec., Viçosa, v.36, n.4, p.625-631, 2007.

PENZ JÚNIOR A.M. 1998. **Enzimas em rações para aves e suínos.** In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35, Botucatu-SP. p.165-178

PEREIRA, Z. W. P; MENTEN, M. F. J; RACANICCI, C. M. L; ANA BEATRIZ TRALDI, B. A; SILVA, S. C; RIZZO, V. P. **Avaliação de complexo enzimático e betaína natural em rações para frangos de corte criados em aviário comercial.** R. Bras. Zootec. vol.39 n°.10 Viçosa Oct. 2010.

PUCCI, A. E. L; RODRIGUES, B. P; FREITAS, F. T. R; FIALHO, T. E; NASCIMENTO, J. A. G; ALVARENGA, R. R. **Efeito do processamento, suplementação enzimática e nível nutricional da ração para frangos de corte no período de 22 a 42 dias de idade.** Ciência e agrotecnologia vol.34 n°.6 Lavras Nov./Dec. 2010.

PUCCI, L.E.A.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. *et al.* **Níveis de óleo e adição de complexo enzimático na ração de frangos de corte.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, n.4, p.909-917, 2003.

RIBEIRO, T.; LORDELO, M.M.; PONTE, P.I.; MAÇÃS, B.; PRATES, J.A.; AGUIAR, F.M.; FALCÃO, L.; FREIRE, J.P.; FERREIRA, L.M.; FONTES, C.M. **Levels of endogenous  $\beta$ -glucanase activity in barley affect the efficacy of exogenous enzymes used to supplement barley-based diets for poultry.** Poultry Science, v. 90, n.6, p.2010-01218, 2011.

SILVA, S.S.P.; SMITHARD, R.R. **Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt cell proliferation and on nutrient digestibility and growth performance of the birds.** British Poultry Science, v.43, n.2, p.274-282, 2002.

SLOMINSKI B. **Recent advances in research on enzymes for poultry diets.** Poultry Science, Champaign, v.90, n 9, 2013-2023, Sept.2011.

SOUZA, R.M. DE; BERTECHINI, A.G.; SOUZA, R.V. ET AL. **Efeito da suplementação enzimática e da forma física da ração sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte.** Revista Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.32, n.2, p.584-590, mar./abr. 2008.

TOLEDO, A.L.; TAKEARA, P.; KOBASHIGAWA, E. et al. **Níveis dietéticos de lisina digestível para frangos de corte machos no período de 1 a 11 dias de idade: desempenho e composição corporal.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.4, p.1090-1096, 2007

UBABEF. União Brasileira de Avicultura. Avicultura em 2013: **Exportações e produção**, 2013. Disponível em: [www.ubabef.com.br](http://www.ubabef.com.br) Acessado em: 18 Maio.2014

VAN SOEST P.J. 1994. **Nutritional ecology of the ruminant.** 2th ed. New York: Cornell University Press.

WYATT, C.L.; BEDFORD, M. **O uso de enzimas nutricionais para maximizar a utilização de nutrientes pelo frango de corte em dietas à base de milho: Recentes processos no desenvolvimento e aplicação prática.** In: SEMINÁRIO TÉCNICO FINNFEEDS, 1998, Curitiba. Anais... Curitiba: FINNFEEDS, 1998. p.2-12.

YAMAZAKI, M.; MURAKAMI, H.; NAKASHIMA, K.; OTSUKA, M. et al. **Effect of cellulase supplementation in low-crude protein diets on performance, nitrogen excretion, fat deposition, hepatic lipogenic and lipolytic enzyme activity in broilers.** British Poultry Science, v.48, p.210-216, 2007.

ZANELLA, I. et al. **Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans.** Poultry Science, Savoy, v. 78, n.4, p. 561-568, 2001.

## **CELULASE DE *Humicola grisea var thermoidea* EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE UM A 21 DIAS**

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a adição de uma celulase líquida produzida pelo micro-organismo *Humicola grisea* com atividade de FPASE de 3,798 U/mL na dieta de frangos de corte, da linhagem Cobb, de um a 21 dias de idade. Os tratamentos consistiram de ração controle composta por milho e farelo de soja e tratamentos com acréscimo de 500 mL/ ton e 1000 mL/ ton de celulase. Foram utilizados 180 frangos de corte, distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso, com três tratamentos, seis repetições de 10 aves cada. Os animais receberam dietas e água à vontade durante todo período experimental. Não foram observados efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para desempenho dos animais de sete, 14 e 21 dias de idade. Foram observados efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para digestibilidade apenas para período de quatro a sete dias com diminuição no consumo de nitrogênio na matéria seca e para digestibilidade de nitrogênio para as aves alimentadas com presença de celulase. Para biometria dos órgãos digestórios, houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) aos sete dias somente para intestino grosso. Não houve efeito significativo para peso absoluto do fígado e do pâncreas e nem para as enzimas amilase, fosfatase alcalina e transaminases, indicando que a celulase não afetou o metabolismo destes órgãos. No soro, não houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) nem para eletrólitos nem para proteína total e enzima fosfatase alcalina. A celulase não afetou o desempenho e o metabolismo de frangos de corte de um a 21 dias de idade.

**Palavras-chave:** aves de corte, desempenho, enzimas fibrolítica



## CELLULASE OF *Humicola grisea* var. *thermoidea* IN BROILER DIETS FOR THE PERIOD OF ONE TO 21 DAYS

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the addition of a liquid cellulase produced by *Humicola grisea* var. *thermoidea* microorganism, with FPU activity of 3,798 U / mL<sup>-1</sup> in the diet of broiler chickens of Cobb lineage, from 1 to 21 days of age. Treatments consisted of a control diet consisting of corn and soybean meal and treatments with addition of 500 mL / ton<sup>-1</sup> and 1000 mL / ton<sup>-1</sup> of cellulase. 180 broilers were distributed in a completely randomized design with three treatments and six replicates of 10 birds each. The animals were fed diets and water ad libitum throughout the experimental period. No significant effect ( $P < 0.05$ ) for the performance at 7, 14 and 21 days old were observed. Significant effects ( $P < 0.05$ ) for digestibility were observed from four to seven days with decreased values with the presence of cellulase for consumption and dry matter digestibility. To biometry of the digestive organs, there was significant effect ( $P < 0.05$ ) at seven days only for the large intestine. There wasn't significant effect for absolute weight of the liver and pancreas and for amylase, alkaline phosphatase and transaminases enzymes, indicating that the cellulase didn't affect the metabolism of these organs. In serum, there wasn't significant effect ( $P < 0.05$ ) neither for electrolytes nor for total protein and alkaline phosphatase enzyme. The cellulase didn't affect the performance and metabolism of broiler chickens from one to 21 days of age.

**Key words:** broilers, performance, endoglucanase, exoglucanase,  $\beta$ -glycosidases.

## INTRODUÇÃO

A maior parte das dietas de frangos de corte no Brasil são compostas por alimentos de origem vegetal e dentre os mais utilizados estão o milho e o farelo de soja instituindo a base da alimentação das aves. Entretanto, esses alimentos oferecem constituintes que não são digeríveis pelas aves, representados pelos polissacarídeos não amiláceos (FORTES, 2012).

As enzimas fibrolíticas exógenas vêm sendo estudadas a fim de melhorar a qualidade nutricional dos grãos com a degradação dos polissacarídeos estruturais e possibilitar a diminuição dos níveis nutricionais da ração com possíveis vantagens econômicas (PEREIRA et al., 2010).

As carboidrases exógenas são utilizadas em rações para frangos de corte, podendo ser suplementadas de forma isolada ou como complexo enzimático, alcança-se melhores resultados de digestibilidade e ganho de peso, embora seja difícil determinar qual enzima seja mais relevante, tendo em vista todos os fatores que influenciam a sua atividade e ação sobre o substrato (MENEGHETTI et al., 2014).

As enzimas exógenas celulasas, são produzidas a partir de diferentes micro-organismos, como fungos e bactérias e são hidrolases capazes de degradar celulose e seus produtos de hidrólise, como oligossacarídeos e celobiose à glicose.

Assim, têm como finalidade melhorar a eficiência de utilização dos alimentos, contribuindo para melhor uso de ingredientes de baixo custo para alimentação animal, pois favorecem para a diminuição da viscosidade da digesta, beneficiando a ação das enzimas endógenas sobre os substratos específicos (RIBEIRO et al., 2011).

Com este trabalho, objetivou-se avaliar a adição de uma celulase produzida pelo fungo *Humicola grisea*, adicionada na dieta de frangos de corte de um a 21 dias de idade sobre desempenho, parâmetros sanguíneos, biometria dos órgãos digestivos e

digestibilidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Linhagem do fungo e produção da enzima celulase

A produção da enzima celulase foi realizada no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Goiás, localizado no município de Goiânia-Go.

A amostra do fungo *Humicola grisea* para produção enzimática utilizada no presente trabalho foi isolada de compostagem na Universidade Federal de Viçosa (MG). O micro-organismo foi cultivado em Meio Ágar Aveia [farinha de aveia infantil Quaker 4,0% (p/v) e Ágar 1,5% (p/v)], autoclavado a 120°C durante 20 minutos.

A cultura foi mantida por quatro dias a 42°C, e posteriormente, a temperatura ambiente por mais três dias. As placas foram estocadas a 4°C.

Para a produção da enzima, dez discos de cultura (5 mm), contendo esporos do *H. grisea* retirados das placas de sete dias de cultivo, foram inoculados em erlenmeyers de 1,0 L, contendo 250 mL de meio de indução (fonte de carbono 5g/L; extrato de levedura 3g/L; sulfato de amônia 1,4 g/L;  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0,3 g/L; sulfato de magnésio 0,3 g/L; elementos traços  $\text{CuSO}_4$  e  $\text{FeSO}_4$ ). Celulose comercial foi utilizada como fonte de carbono. Os frascos foram incubados em agitador rotatório (Controlled Environment Incubator Shaker Brunswick Scientific Co Inc., U.S.A) á 42°C e velocidade de 120 rpm, por 72 horas. A atividade da enzima FPASE obtida foi de 3,798 U/mL.

### Instalações

O experimento com frangos foi conduzido no Instituto Federal Goiano (IFG)-*Campus* Rio Verde no Aviário e nos Laboratórios de Nutrição Animal e Bioquímica e Metabolismo Animal. Utilizou-se 180 pintos de corte, da marca comercial Cobb, com um dia de idade. Os animais foram alojados no galpão devidamente preparado com todo seu manejo inicial ideal para seu recebimento, e distribuídos aleatoriamente nos tratamentos.

Foram realizados três tratamentos, a saber: **tratamento controle (T1)** - Dieta à base de milho, farelo de soja, óleo de soja e premix mineral e vitamínico (ração basal), **Tratamento 2 (T2)**- Ração Basal com celulase líquida produzida a partir do fungo *H. grisea* 500 ml/t, **Tratamento 3 (T3)**- Ração Basal com celulase líquida produzida a partir do fungo *H. grisea* 1000 ml/t.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com três tratamentos, seis repetições e 10 aves por gaiola experimental 0,90m x 0,60m x 0,40m, que foi considerado a unidade experimental. As aves foram submetidas ao programa de luz contínuo (luz natural + artificial), sendo utilizadas lâmpadas de 100 watts, durante a noite. A ração e a água foram fornecidas à vontade para o período de 1 a 21 dias.

Em todas as gaiolas foram utilizados comedouros, bebedouros, uma lâmpada incandescente de 100 watts como fonte de calor artificial para o período de um a 14 dias de idade e ventiladores para renovação do ar proporcionando assim controle no conforto térmico das aves. As variáveis ambientais, temperatura foram registradas durante todo o período experimental, duas vezes ao dia (às nove horas da manhã e 18 da tarde) por meio de termômetros de máxima e mínima e a umidade máxima e mínima pelo termohigrômetro.

As temperaturas e umidades, que ocorreram simultaneamente, foram colhidas diariamente pelo termohigromêtro e as médias semanais das máximas e mínimas registradas durante o período experimental (Tabela 4).

**TABELA 4.** Médias semanais das temperaturas e umidades máximas e mínimas registradas diariamente no galpão experimental.

Dias	Temperatura (°C)		Umidade (%)	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
04 a 11/04/14	34,6	27	32	28
12 a 18/04/14	30,2	23,8	55	51
19 a 25/04/14	28	23,2	58	52

<b>Média</b>	<b>30,9</b>	<b>24,6</b>	<b>48</b>	<b>43</b>
--------------	-------------	-------------	-----------	-----------

As rações foram formuladas segundo recomendações de ROSTAGNO et al. (2011).

Tabela 3. Composição percentual e Calculada das rações experimentais para diferentes fases de criação

<b>Ingrediente (%)</b>	<b>Pré-Inicial (1-7 dias)</b>	<b>Inicial (8-21 dias)</b>
Milho	57,5865	60,0401
Farelo de Soja	36,9273	34,0639
Óleo de Soja	1,2906	2,1716
Cálcio	0,8081	0,8531
L-Lisina HCL	0,3525	0,3014
Sal	0,4470	0,4250
Fosfato Bicálcio	1,9123	1,5581
DL-Metionina	0,3594	0,3055
Premix vitamínico <sup>1 2</sup>	0,0800	0,0800
Premix mineral <sup>1 2</sup>	0,1000	0,1000
L-Treonina	0,1363	0,1012
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição Calculada:</b>		
Proteína Bruta (%)	22,400	21,2000
Energia metabolizável (Mcal/kg)	2,9600	3,0500
Lisina Digestível (%)	1,3240	1,2170
Metionina Digestível (%)	0,6625	0,5962
Met + Cist Digestível (%)	0,9530	0,8760
Cálcio (%)	0,9200	0,8410
Sódio (%)	0,2200	0,2100
Fósforo Disponível (%)	0,4700	0,4010
Treonina Digestível (%)	0,8610	0,7910

Triptofano Digestível (%)	0,2478	0,2322
---------------------------	--------	--------

<sup>1</sup>Suplementação Vitamínico e Mineral Ração Inicial ( por kg de produto): Cálcio 68,0000 g/kg, Ferro 30,0000 g/kg, Zinco 40,0083 g/kg, Selênio 225,0000 mg/kg, Cobre 75,0000 g/kg, Manganês 45,0000 g/kg, Iodo 500,0000 mg/kg, Cobalto 3,0000 mg/kg Magnésio 80,0000 mg/kg, Zinco 17,9892 g/Kg, Vitamina A 5,3784 UI/Kg, Vitamina D3 2,2744 UI/Kg, Vitamina E 44,9894 UI/Kg, Vitamina K 2.239,37 mg/Kg, Vitamina B1 1.168,31 mg/Kg, Vitamina B2 3.585,60 mg/Kg, Vitamina B6 1.788,62 mg/Kg, Vitamina B12 6.723,00 mcg/Kg, Ácido Fólico 894,159 mg/Kg, Ácido Nicotínico 22,402g/Kg, Ácido Pantotênico 8.968,48 mg/Kg, Biotina 89,64 mg/Kg, Antioxidante 527,7 mg/Kg, Nicarbazina 50 mg/Kg, Narasina 50,00 mg/Kg.<sup>2</sup> Suplementação Vitamínico e Mineral Ração Crescimento ( por kg de produto): Cálcio 68,0000 g/kg, Ferro 30,0000 g/kg, Zinco 40,0083 g/kg, Selênio 225,0000 mg/kg, Cobre 75,0000 g/kg, Manganês 45,0000 g/kg, Iodo 500,0000 mg/kg, Cobalto 3,0000 mg/kg Magnésio 80,0000 mg/kg, Zinco 17,9892 g/Kg, Vitamina A 4.196.448,00 UI/Kg, Vitamina D3 1.293.904,80 UI/Kg, Vitamina E 14.085.954,36UI/Kg, Vitamina K 1.747,25 mg/Kg, Vitamina B1 911,5614 mg/Kg, Vitamina B2 2.797,63 mg/Kg, Vitamina B6 1.395,55 mg/Kg, Vitamina B12 5.245,56 mcg/Kg, Ácido Fólico 697,6595 mg/Kg, Ácido Nicotínico 17,4789 g/Kg, Ácido Pantotênico 6.997,58 mg/Kg, Biotina 69,9408 mg/Kg, Antioxidante 508,2839 mg/Kg, Salinomicina 66 mg/Kg.

As variáveis avaliadas foram: desempenho, digestibilidade, biometria dos órgãos digestivos, análise das vísceras (pâncreas e fígado) e parâmetros sanguíneos.

### **Ensaio de desempenho**

Os pesos das aves e das dietas no primeiro, sétimo, 14º, e 21º dias de idade foram avaliados. As variáveis de desempenho avaliadas foram: ganho de peso (GP): calculado pela diferença entre os pesos médios das aves obtidos durante o período experimental; consumo de ração (CR): obtido pela diferença entre a quantidade da dieta oferecida no início e as sobras ao final das fases. Foi considerado o número de aves mortas no intervalo como critério para correção dos valores de consumo. O índice de conversão alimentar (CA) foi obtido pela relação entre ganho de peso total e consumo de ração total.

### **Digestibilidade**

As coletas de excretas produzidas pelas aves foram realizadas entre o 4º e o 7º dia e do 14º e do 17º de idade, efetuada duas vezes ao dia durante os períodos experimentais. As excretas e dietas foram identificadas e acondicionadas sob congelamento e posteriormente enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal do IFGoiano - *Campus* Rio verde para determinação dos níveis de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), seguindo a metodologia descrita em SILVA & Queiroz (2002).

Para preparar as amostras de excretas para análise, foram coletadas alíquotas, identificadas e submetidas à pré-secagem em estufa retilínea de ventilação forçada (FANEM LTDA) a  $55 \pm 5^\circ\text{C}$ , e posteriormente trituradas em moinhos tipo Wiley, de acordo com a metodologia descrita em SILVA & QUEIROZ (2002). Das amostras das rações experimentais foram determinados: matéria seca a  $55^\circ\text{C}$  das excretas em estufa de ventilação forçada com temperaturas de  $55^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$  por 72 horas; matéria seca a  $105^\circ\text{C}$  das rações experimentais e das excretas em estufa regulada a  $105^\circ\text{C}$ , por 12 horas, sendo as análises realizadas em duplicata; nitrogênio total das rações experimentais e das excretas, utilizando o método de micro-Kjeldahl e posteriormente, calculados os valores de proteína bruta pela multiplicação da % de N por 6,25; digestibilidade determinada diferença entre o nutriente ingerido e o excretado dividido pelo nutriente ingerido (MATTERSON et al., 1965); retenção de matéria seca, obtida pela quantidade de matéria seca ingerida subtraída da quantidade excretada em relação ao ganho de peso; retenção de proteína bruta: determinada pela quantidade de proteína bruta ingerida subtraída da quantidade excretada dividida pelo ganho de peso. O cálculo da retenção de nutrientes seguiu o descrito por NOY & SKLAN (2002), levando-se em consideração o balanço dos nutrientes e o ganho de peso registrado no período de quatro a sete e de 14 a 17 dias.

### **Biometria dos órgãos do aparelho digestivo**

No sétimo, 14° e 21° dias de idade, uma ave por tratamento foi identificada e transportada para abatedouro do aviário do IFGoiano – *Campus* Rio Verde, posteriormente sacrificadas por deslocamento cervical.

Após sacrifício, foram retiradas as vísceras (fígado, moela, pró-ventrículo e pâncreas) que compõe o trato gastrintestinal (TGI), as quais foram medidas e pesadas seguindo os seguintes passos:

- Comprimento do TGI, medido pelo tamanho do TGI desde a inserção do esôfago na orofaringe até a comunicação do intestino grosso com a cloaca;
- Peso do pró-ventrículo mais moela (com conteúdo remanescente) separado após medida do comprimento do TGI;
- Peso do pâncreas, após a sua separação da alça duodenal;



- Peso do intestino delgado, porção que compreende o final do estômago muscular até o início dos cecos.
- Peso do intestino grosso, representado pelo peso dos cecos, do cólon e do reto.
- Peso do fígado, dado pelo peso do fígado sem a vesícula.

Todos os pesos obtidos foram utilizados para calcular o peso relativo de cada órgão, pela seguinte fórmula: Peso relativo do órgão = (peso do órgão / peso vivo) x 100.

### **Análise das vísceras (pâncreas e fígado)**

Na necropsia, as vísceras fígado e pâncreas foram removidos, acondicionados em recipientes devidamente identificados e rapidamente congelados, usando nitrogênio líquido, com o intuito de cessar a atividade enzimática, e posterior armazenados. Esse material foi homogeneizado (1g de tecido e 9mL de água) e depois centrifugado a 8000 rpm a 40°C por 10 minutos. Coletou-se o sobrenadante para a determinação, em triplicata, da amilase no pâncreas e teor proteico e atividade enzimática da fosfatase alcalina e transaminases no fígado, por kits comerciais da DOLES. Todos os procedimentos foram feitos em banho de gelo com água destilada para evitar a perda da atividade enzimática.

### **Determinação do perfil bioquímico sérico.**

Coletou-se o sangue das aves nos dias sete e 21, por punção cardíaca em tubos identificados que foram centrifugados a 6.000 rpm por 10 minutos, para obtenção do soro, no qual se procederam às análises dos minerais cálcio (Ca mg/dL), fósforo (P mmol/L), cloro (Cl mmol/L) e potássio (K mmol/L), das atividades da enzima fosfatase alcalina (FA UI/L) e de proteína (Prot g/dL), através de kits comerciais DOLES.

### **Análise estatística**

#### **Modelo estatístico**

O modelo estatístico aplicado se baseia na equação:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Em que:

$Y_{ij}$  = É o valor observado do tratamento  $i$ , na repetição  $j$

$\mu$  = Média geral das observações

$t_i$  = Efeito do tratamento  $i$ .

$\epsilon_{ij}$  = Erro aleatório residual da observação  $ij$

A análise estatística dos dados foi feita por análise de variância utilizando o sistema SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) versão 9.5 (UFV, 2007). As médias foram comparadas teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Desempenho

O peso médio das aves utilizadas no início do experimento um foi de  $43,6 \pm 0,84$ g (peso médio do primeiro dia).

Para o desempenho dos frangos de corte, no período de um a 21 dias, não se observou influência da suplementação da enzima celulase em nenhum dos parâmetros avaliados. Na Tabela 5, são apresentados os dados encontrados para o experimento com sete, 14 e 21 dias de idade.

Tabela 5. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de um a sete dias de idade de frangos alimentados com rações pré-iniciais suplementadas com enzima celulase e rações iniciais suplementadas com enzima celulase aos oito a 21 dias de idade.

Idade 1-7 dias (fase pré-inicial)			
Rações	CR (g)	GP (g)	CA
Dieta Basal	123,56	103,68	1,20
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	125,60	101,38	1,24
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	123,62	103,62	1,19
<b>CV (%)</b>	<b>6,46</b>	<b>8,02</b>	<b>9,84</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>
Idade 8-14 dias (fase inicial)			
Rações	CR (g)	GP (g)	CA
Dieta Basal	390,51	254,33	1,54
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	390,68	270,13	1,44
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	379,75	258,38	1,47
<b>CV (%)</b>	<b>6,27</b>	<b>5,96</b>	<b>8,60</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>
Idade 15-21 dias (fase inicial)			

Rações	CR (g)	GP (g)	CA
Dieta Basal	687,96	392,53	1,75
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	649,45	399,06	1,64
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	664,36	394,20	1,61
<b>CV (%)</b>	<b>6,09</b>	<b>8,34</b>	<b>9,25</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>

\* Médias da mesma coluna seguidas de letras diferentes sobrescritas diferem significativamente pelo Tukey ( $P < 0.05$ ).

FISCHER et al. (2002) trabalhando com frangos de corte Ross, de 1 a 35 dias de idade, utilizando um complexo enzimático à base de protease, amilase e celulase, em dietas contendo milho e farelo de soja, verificaram que não houve efeito do complexo multienzimático sobre os parâmetros de desempenho em nenhuma das fases avaliadas.

PINHEIRO et al. (2004) estudando o uso de protease,  $\alpha$ -amilase e celulase em dieta à base de milho e de farelo de soja, não observaram efeito significativo nos resultados de desempenho, em frangos de 1- 35 dias.

ESONU et al., (2004), no entanto, incluíram complexo à base de celulase em dieta para frangos de corte e observaram que não houve efeito significativo de ganho de peso e o consumo de ração aumentou com a inclusão da enzima, mas não houve diferença no peso final e conversão alimentar.

STRADA et al. (2005) ao fornecerem rações à base de sorgo e farelo de soja e milheto e farelo de soja, suplementadas ou não com complexo multienzimático, a frangos de corte, de oito a 21 dias de idade, não verificaram efeito sobre o desempenho.

Resultados semelhantes foram observados por OLIVEIRA et al. (2009) que estudaram a inclusão de complexo enzimático constituído de celulase, protease e  $\alpha$ -amilase, fornecido as rações à base de milho e farelo de soja para frangos de cortes de um a 42 dias e não observaram efeito significativo para desempenho.

FISCHER et al. (2002) estudando o efeito da inclusão de um complexo enzimático à base de protease, amilase e celulase, nas rações à base de milho e farelo de soja para frangos de corte de um a 28 dias, observaram melhora na conversão alimentar, no entanto não obtiveram efeito significativo sobre o ganho de peso e consumo de ração.

TORRES (2003), avaliando o efeito de um complexo enzimático (amilase, celulase, xilanase e protease) adicionado, as dietas à base de milho e soja, sobre o desempenho de frangos de corte de 1 a 28 dias de idade verificou melhora no ganho de peso e conversão alimentar.

LEITE et al. (2011) Não observaram efeito significativo sobre o desempenho de frango de corte de uma a sete dias, alimentados com rações contendo sorgo ou milho, com adição de complexo enzimático composto por amilase, pectinase, beta-glucanase, pentosanase, celulase, protease e fitase

Supõe-se que a enzima celulase produzida pelo fungo *H. gri.sea* não foi aplicada na concentração adequada ou diminuiu sua atividade no trato gastrointestinal, não beneficiando o desempenho das aves. Pode-se levar em consideração que o milho e farelo de soja são ingredientes de alto valor nutritivo, possível que a celulase na forma líquida não tivesse efeito efetivo sobre o alimento. Talvez, a utilização de alimentos mais fibrosos tivessem tido resultados sobre o desempenho dos frangos de corte de um a 21 dias.

### **Ensaio de metabolismo para a fase pré-inicial e inicial**

Os parâmetros avaliados na fase pré-inicial para o nitrogênio (N) excretado, balanço de N e retenção de N com relação ao ganho de peso não apresentaram efeito significativo, para frangos de corte alimentados com rações suplementadas com celulase na proporção de 500 ml/ton e 1000 ml/ton. Foi observado diferença significativa com a suplementação da enzima na dose de 1000 m/L para consumo de N e digestibilidade de N, com valores menores para presença de enzima. Esses resultados implicam que rações com enzimas não apresentaram melhora na absorção de N pelas aves (Tabela 6). A imaturidade do sistema digestório das aves nesta fase reduz a capacidade de utilização dos nutrientes (NOY & SKLAN, 2002).

Para fase inicial não foram observadas diferenças significativas no consumo de nitrogênio, N excretado, balanço de N, digestibilidade de N e retenção de N para dietas suplementadas com celulase líquida (Tabela 7) nas concentrações de 500 mL/t e 1000 mL/t.

Tabela 6. Consumo de nitrogênio da matéria seca (CNMS), nitrogênio excretado na matéria seca (NEXCMS), balanço de nitrogênio (BN), digestibilidade de nitrogênio (DIGN) e retenção de nitrogênio (RETEN) das excretas e rações colhidas nos períodos de quatro a sete dias.

Período de quatro a sete dias					
<b>Rações</b>	<b>CNMS</b>	<b>NEXCMS</b>	<b>BN</b>	<b>DIGN</b>	<b>RETEN</b>
Dieta Basal	36,63A	5,75	30,87	84,01A	27,76
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	30,92AB	6,75	24,34	81,28AB	24,85

Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	35,35	B 5,43	29,22	82,38	B 27,40
<b>CV (%)</b>	<b>10,54</b>	<b>7,49</b>	<b>14,57</b>	<b>6,09</b>	<b>7,89</b>
<b>Valor de P</b>	<b>0,037</b>	<b>0,107</b>	<b>0,037</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>

\* Médias da mesma coluna seguidas de letras diferentes sobrescritas diferem significativamente pelo Tukey ( $P < 0.05$ ).

CNMS: consumo de nitrogênio da matéria seca (g), NEXCMS: nitrogênio excretado na matéria seca (g), BN: balanço de nitrogênio (g), DIGN: digestibilidade do nitrogênio (%), RETEN: retenção (mg/g).

É importante ressaltar também que, frequentemente, torna-se difícil à avaliação dos efeitos isolados de enzima celulase, suplementadas em rações para frangos de corte em virtude da maioria das pesquisas utilizarem os complexos para avaliação do desempenho e digestibilidade.

LEITE et al. (2011), estudando o desempenho de frangos de corte aos 28 dias alimentados com rações contendo sorgo ou milho, com adição de complexo enzimático não observaram diferença para digestibilidade de nitrogênio total do milho.

Resultados controversos forma encontrados por SIMON et al. (2002), observaram que a suplementação de enzimas que degradam polissacarídeos não amidicos em rações de frango de corte diminui a viscosidade, tendo como resposta a melhora na digestibilidade dos nutrientes.

RODRIGUES et al. (2003) verificaram que a adição de complexo enzimático composto por amilase, protease, xilanase e celulase em rações à base de milho melhorou a digestibilidade da massa de matéria seca e da proteína bruta diferentemente do encontrado neste trabalho.

Resultados encontrados por MARQUES (2007) mostraram que a suplementação de um complexo enzimático na ração para frango de corte de um a 21 dias, melhorou a digestibilidade, com elevação do aproveitamento nutricional das dietas tanto na fase pré- inicial quanto na fase inicial.

Tabela 7. Consumo de nitrogênio da matéria seca (CNMS), nitrogênio excretado na matéria seca (NEXCMS), balanço de nitrogênio (BN), digestibilidade de nitrogênio (DIGN) e retenção de nitrogênio (RETEN) das excretas e rações colhidas nos períodos e de 14 a 17 dias

Período de 14 a 17 dias					
<b>Rações</b>	<b>CNMS</b>	<b>NEXCMS</b>	<b>BN</b>	<b>DIGN</b>	<b>RETEN</b>
Dieta Basal	66,42	18,64	53,41	90,18	46,52
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	69,94	17,30	54,03	90,75	46,32
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	67,48	18,12	55,85	89,16	45,62

<b>CV (%)</b>	<b>7,38</b>	<b>13,40</b>	<b>7,22</b>	<b>3,16</b>	<b>6,97</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>

\* Médias da mesma coluna seguidas de letras diferentes sobrescritas diferem significativamente pelo Tukey ( $P < 0.05$ ).

CNMS: consumo de nitrogênio da matéria seca (g), NEXCMS: nitrogênio excretado na matéria seca (g), BN: balanço de nitrogênio (g), DIGN: digestibilidade do nitrogênio (%), RETEN: retenção (mg/g).

### Biometria relativa de órgãos para as fases pré-inicial e inicial

O crescimento do trato gastrointestinal é importante no desenvolvimento geral da ave, uma vez que o melhor desempenho está associado a maior capacidade de ingestão e digestão de alimentos (BOLELI et al., 2002).

Segundo STRINGHINI et al. (2003) o conhecimento do peso do órgãos das aves na fase pré-inicial se constitui em fator importante para caracterizar o seu bom desenvolvimento digestivo.

Houve influência da suplementação enzimática da celulase para os sete dias para peso relativo do intestino grosso. Para o período de 14 e 21 dias, não houve influência dos níveis enzimáticos de celulase sobre os parâmetros avaliados. A Tabela 8 apresenta os dados obtidos do experimento para peso relativo dos órgãos.

Tabela 8. Biometria dos órgãos digestivos (peso relativo) de frangos de corte com sete, 14 e 21 dias alimentados com suplementação de celulase. Comprimento do trato gastrointestinal (TGIMETRO), peso do trato gastrointestinal (TGIPESO), peso do esôfago + papo (ESOP), peso do pró-ventrículo + moela (PROME), peso pâncreas (PANC), peso fígado (FIG), peso intestino delgado (ID), peso do intestino grosso (IG)

Idade 1-7 dias								
Rações	TGIMETRO (cm)	TGIPESO (%)	ESOP (%)	PROME (%)	PANC (%)	FIG (%)	ID (%)	IG (%)
Dieta Basal	52,05	7,25	1,20	8,08	0,51	4,22	5,89	1,36a
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	55,59	7,50	1,19	7,97	0,47	4,78	5,80	1,59b
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	57,35	7,48	1,18	7,95	0,48	4,22	5,91	1,57b
<b>CV (%)</b>	<b>12,60</b>	<b>8,14</b>	<b>11,40</b>	<b>12,10</b>	<b>12,52</b>	<b>10,71</b>	<b>10,21</b>	<b>7,40</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,115</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,004</b>
Idade 8-14 dias								
Rações	TGIMETRO (cm)	TGIPESO (%)	ESOP (%)	PROME (%)	PANC (%)	FIG (%)	ID (%)	IG (%)
Dieta Basal	26,70	5,42	0,89	4,53	0,34	2,69	4,38	1,13
Dieta Basal + Enzima	26,57	5,46	0,91	4,53	0,31	2,53	4,37	1,08

500 ml/t								
Dieta Basal + Enzima	30,13	5,76	0,90	5,11	0,37	2,94	4,70	1,05
1000 ml/t								
<b>CV (%)</b>	<b>10,72</b>	<b>10,48</b>	<b>12,65</b>	<b>13,69</b>	<b>11,81</b>	<b>12,06</b>	<b>11,99</b>	<b>12,74</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,129</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>
Idade 15-21 dias								
<b>Rações</b>	<b>TGIMETRO (cm)</b>	<b>TGIPESO (%)</b>	<b>ESOP (%)</b>	<b>PROME (%)</b>	<b>PANC (%)</b>	<b>FIG (%)</b>	<b>ID (%)</b>	<b>IG (%)</b>
Dieta Basal	15,82	4,36	0,62	3,76	0,26	2,47	3,56	0,80
Dieta Basal + Enzima	16,18	4,27	0,63	3,87	0,25	2,38	3,40	0,86
500 ml/t								
Dieta Basal + Enzima	16,04	4,38	0,61	3,91	0,28	2,53	3,56	0,82
1000 ml/t								
<b>CV (%)</b>	<b>10,38</b>	<b>9,00</b>	<b>11,52</b>	<b>9,86</b>	<b>10,82</b>	<b>9,83</b>	<b>11,63</b>	<b>7,12</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,226</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,323</b>

\* Médias da mesma coluna seguidas de letras diferentes sobrescritas diferem significativamente pelo Tukey ( $P < 0.05$ ).

Isto pode resultar no melhor aproveitamento de fibras dos alimentos, que podem ter sido afetadas pela conversão da celulose em celobiose que provocou maior fermentação no ceco.

Estes dados corroboram com PETTERSSON et al. (1994), WANG et al. (2005), JÓZEFIAK et al. (2007) e PINHEIRO et al. (2008), que afirmam que a utilização de enzimas permitem a solubilização de parte da fração fibrosa insolúvel, possibilitando maior aproveitamento do conteúdo energético das dietas através dos produtos da fermentação cecal, como os ácidos graxos voláteis (AGV). O aumento na concentração de AGV no final do trato gastrointestinal de aves consumindo dietas com níveis elevados de fibra suplementadas com complexos enzimáticos foi relatado.

KRÁS (2010) ressalta que alguns autores colocam como efeitos benéficos a utilização de fibras em níveis moderados, o que pode ter ocorrido neste experimento com quebra da celulase.

Na fase de oito a 14 dias de idade, foi observado maior peso relativo para fígado, proventrículo + moela, pâncreas e intestino delgado. O fato das aves apresentarem maior proporção de intestino delgado e fígado, pode estar relacionado às características de elevada digestão dos alimentos das aves com alto potencial crescimento (GOVAERTS ET AL., 2000).

A adição de enzima na ração aos 14 e 21 dias não influenciaram os parâmetros avaliados para biometria relativa (TABELA 8).



Nos primeiros dias de vida, o sistema digestivo cresce mais rapidamente que o restante do corpo da ave. Posteriormente, o desenvolvimento corporal (músculos e ossos) acelera fazendo com que proporcionalmente (peso relativo) o sistema digestivo reduza com o avançar da idade.

A evolução do desenvolvimento dos pesos de órgãos observada neste experimento seguiu a tendência esperada com redução de sua proporção com a idade, dados semelhantes foram observados por MARQUES et al. (2007). Em geral, os órgãos das aves que não receberam enzima foram mais pesados.

### Atividade da amilase pancreática para as fases pré-inicial e inicial

De acordo com os dados apresentados na Tabela 9, observa-se que não houve efeito significativo para peso absoluto do pâncreas e nem para atividade da amilase no pâncreas aos sete, 14 e 21 dias de idade, com suplementação da enzima celulase nas rações.

Tabela 9- Peso absoluto do pâncreas e concentração de amilase no pâncreas (UI/dL) de frangos de corte no período de sete, 14 e 21 dias de idade alimentados com suplementação de celulase.

Idade 1-7 dias		
Rações	Panc (g)	Amilase (UI/dL)
Dieta Basal	0,88	794,38
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	0,80	804,59
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	0,80	800,87
<b>CV (%)</b>	<b>9,34</b>	<b>2,30</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>
Idade 8-14 dias		
Rações	Panc (g)	Amilase (UI/dL)
Dieta Basal	1,53	793,36
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	1,45	800,95
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	1,56	769,60
<b>CV (%)</b>	<b>11,81</b>	<b>8,36</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>
Idade 15-21 dias		
Rações	Panc (g)	Amilase (UI/dL)
Dieta Basal	2,40	780,28
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	2,23	809,74

Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	2,50	801,05
<b>CV (%)</b>	<b>10,82</b>	<b>4,58</b>
<b>Valor de P</b>	<b>0,226</b>	<b>&gt;0,05</b>

\* Médias da mesma coluna seguidas de letras diferentes sobrescritas diferem significativamente pelo Tukey ( $P < 0.05$ ).

A amilase não é considerada específica em aves. Existem poucas descrições e estudos de doença pancreática em aves e a atividade da amilase pode incrementar tanto na injúria pancreática como em outras patologias. (CAPITELLI & CROSTA, 2013).

LIMA et al. (2002) observaram em trabalho feito com frangos de corte que a adição de complexo enzimático composto por amilase, xilanase e protease não teve efeito persistente na atividade das enzimas.

De acordo com GRACIA et al. (2003) a secreção de enzimas pancreáticas pode ser afetada pela concentração de enzimas e substratos ou produtos de hidrólise no intestino delgado.

A alimentação de pintos estimula a secreção de amilase e outras enzimas. Nesta fase a atividade da amilase é praticamente desprezível até o segundo dia de idade, mas existe aumento entre o segundo e o sétimo dia. Esse fato pode ser explicado pela falta de carboidratos no saco vitelino, e a demora na secreção de enzimas se deve a adaptação das secreções aos nutrientes ingeridos pelo pinto nas primeiras horas, sendo assim a  $\alpha$ -amilase é substrato dependente (TAVERNARI & MENDES, 2009).

SAKAMOTO et al. (2011) descreveram em seu trabalho que a maior atividade da amilase nas aves ocorre aos 14 dias de idade, coincidindo com o maior crescimento do pâncreas. A ação diminui com o avançar da idade e o desenvolvimento máximo do pâncreas ocorre na segunda semana, efeito contraditório encontrado nesse trabalho, sendo que a maior atividade da amilase nas aves foi nos tratamentos suplementados com celulase aos 21 dias, coincidindo com a maior proporção do pâncreas.

### **Determinação da concentração de proteína do fígado, transaminases e fosfatase alcalina no fígado para as fases pré-inicial e inicial.**

O fígado, por ser um órgão central amplamente relacionado ao metabolismo de carboidratos, lipídios, proteínas e alterações em seu conteúdo proteico, pode revelar alterações de ordem metabólicas gerais (BARBOSA et al., 2010).

Em geral a especificidade e sensibilidade dos valores de atividade enzimática na aves podem variar por espécie em decorrência das diferenças entre distribuição das enzimas nos órgãos. É importante lembrar que valores elevados da enzima normalmente dão ideia do grau de lesão do órgão de onde provêm e não da diminuição na função deste órgão (CAPITELLI & CROSTA, 2013).

O conhecimento dos parâmetros enzimáticos teciduais da fosfatase alcalina (FA), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e glutamato piruvato transaminase (GPT) e da proteína total no fígado representa papel importante no diagnóstico da saúde dos animais. Essas moléculas podem refletir o estado geral metabólico, neste caso, indicando interferência benéfica ou adversa da inclusão de substâncias para a ave. Estas enzimas são encontradas em muitos órgãos dos animais, porém sua maior produção provém do fígado e a detecção de aumento de seus níveis pode significar alteração de funcionamento neste órgão (KANASHIRO, et al. 2001).

Na Tabela 10, estão apresentados os resultados do peso absoluto do fígado, proteína total, fosfatase alcalina (FA), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e do glutamato piruvato transaminase (GPT), aos sete, 14 e 21 dias de idade.

Não houve efeito significativo para peso absoluto do fígado, proteína total, FA, GOT e GPT no fígado de frangos de corte suplementados com celulase aos sete, 14 e 21 dias de idade.

Tabela 10. Peso absoluto do fígado, concentração de proteína e atividade das enzimas fosfatase alcalina (FA), glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) e glutamato-piruvato transaminase (GPT) no fígado de frangos de corte nas fases pré-inicial e inicial

Idade 1-7 dias					
Rações	Fígado (g)	Proteína (mg/dL)	Fosfatase (UI/L)	GPT (UI/L)	GOT (UI/L)
Dieta Basal	7,20	2,14	212,10	30,96	262,04
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	7,91	2,95	205,49	31,29	258,30
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	7,08	2,18	214,44	31,02	264,61
<b>CV (%)</b>	<b>10,02</b>	<b>9,326</b>	<b>9,326</b>	<b>11,36</b>	<b>9,223</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>
Idade 8-14 dias					
Rações	Fígado (g)	Proteína (mg/dL)	Fosfatase (UI/L)	GPT (UI/L)	GOT (UI/L)
Dieta Basal	12,01	2,62	218,06	25,65	299,98
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	11,55	2,58	206,32	25,13	294,18
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	12,35	2,43	212,64	26,57	292,84
<b>CV (%)</b>	<b>8,18</b>	<b>11,75</b>	<b>10,04</b>	<b>7,16</b>	<b>7,19</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>

Rações	Idade 15-21 dias				
	<b>Fígado (g)</b>	<b>Proteína (mg/dL)</b>	<b>Fosfatase (UI/L)</b>	<b>GPT (UI/L)</b>	<b>GOT (UI/L)</b>
Dieta Basal	22,26	2,14	209,00	30,96	262,04
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	21,06	2,21	208,78	31,29	266,54
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	22,56	2,18	209,82	31,02	264,61
<b>CV (%)</b>	<b>9,83</b>	<b>9,72</b>	<b>5,87</b>	<b>11,36</b>	<b>8,46</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>

\* Médias da mesma coluna seguidas de letras diferentes sobrescritas diferem significativamente pelo Tukey ( $P < 0.05$ ).

Quando analisados os resultados da GOT no tecido hepático, foram encontrados média de valores em (UI/L) de 261,65 aos sete dias, 295,66 aos 14 dias e 264,39 aos 21 dias, e para GPT (UI/L) 31,09 aos sete dias, 25,78 dias aos 14 dias e 31,09 dias para 21 dias.

MINAFRA (2010) e MARQUES (2007) estudaram o efeito da suplementação enzimática composto por amilase sobre as enzimas e os teores de proteína do fígado. Valores parecidos foram encontrados para GOT, FA. Os teores de proteína foram semelhantes aos encontrados em MARQUES (2007). Os valores de GPT foram inferiores aos encontrados nos dois trabalhos.

Os resultados seguem que não há alterações nas enzimas e dos teores de proteína do fígado analisados em frangos de corte, com a suplementação da enzima celulase até os 21 dias de idade, podendo inferir, portanto, que não houve alterações metabólicas no fígado.

### **Determinação do perfil bioquímico sérico nas fases pré-inicial e inicial**

Na clínica de aves é comum utilizar intervalos de referência baseados na literatura, em que foram usadas amostras com número pequeno de animais, que não foram corretamente caracterizadas e sem descrições detalhadas das metodologias utilizadas para os exames laboratoriais. A maioria dos clínicos está ciente deste problema e acaba definindo os seus próprios valores se baseando na experiência individual (TANG et al., 2013).

Na Tabela 11, estão apresentados os resultados de cálcio, fósforo, cloro, potássio, proteína e fosfatase alcalina no soro sanguíneo das aves, aos sete, 14 e 21 dias de idade.

Tabela 11. Concentrações cálcio (Ca), fósforo (P), cloro (Cl), potássio (K), proteína (Prot) e fosfatase alcalina (FA) no soro de frangos de corte no período de sete, 14 e 21 dias com dietas suplementadas com celulase

Idade 1-7 dias						
Rações	Ca (mg/dL)	P (mmol/L)	Cl (mmol/L)	K (mmol/L)	Prot (mg/dL)	FA (UI/L)
Dieta Basal	10,85	5,57	81,92	6,55	3,55	213,13
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	10,76	5,05	85,42	5,86	3,41	204,12
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	10,63	5,64	94,96	5,97	3,60	191,50
<b>CV (%)</b>	<b>3,090</b>	<b>9,35</b>	<b>12,51</b>	<b>8,28</b>	<b>10,28</b>	<b>7,37</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&lt;0,05</b>	<b>0,126</b>	<b>0,136</b>	<b>0,067</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,071</b>
Idade 8-14 dias						
Rações	Ca (mg/dL)	P (mmol/L)	Cl (mmol/L)	K (mmol/L)	Prot (mg/dL)	FA (UI/L)
Dieta Basal	9,36	5,50	86,57	7,71	2,54	260,08
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	9,61	5,42	85,92	7,52	2,66	266,77
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	9,56	5,66	88,65	7,65	2,46	271,59
<b>CV (%)</b>	<b>4,68</b>	<b>3,98</b>	<b>9,45</b>	<b>7,03</b>	<b>9,35</b>	<b>5,31</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,382</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,355</b>	<b>&gt;0,05</b>
Idade 15-21 dias						
Rações	Ca (mg/dL)	P (mmol/L)	Cl (mmol/L)	K (mmol/L)	Prot (mg/dL)	FA (UI/L)
Dieta Basal	10,57	5,53	74,47	8,19	3,22	206,57
Dieta Basal + Enzima 500 ml/t	10,85	5,61	72,95	8,07	3,29	203,14
Dieta Basal + Enzima 1000 ml/t	11,02	5,60	78,52	8,44	3,10	207,17
<b>CV (%)</b>	<b>2,25</b>	<b>9,09</b>	<b>10,13</b>	<b>5,05</b>	<b>11,20</b>	<b>6,51</b>
<b>Valor de P</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>&gt;0,05</b>	<b>0,323</b>	<b>0,318</b>	<b>0,226</b>	<b>&gt;0,05</b>

\* Médias da mesma coluna seguidas de letras diferentes sobrescritas diferem significativamente pelo Tukey ( $P < 0.05$ ).

Os níveis de cálcio (Ca), fósforo (P), cloro (Cl), potássio (K), proteína (Prot) e fosfatase alcalina (FA) no soro sanguíneo não foram afetados pela suplementação da enzima celulase de sete, 14 e 21 dias.

Entretanto as aves alimentadas com a ração suplementada com enzima celulase 500 ml/ ton, tiveram a relação 2:1 para Ca:P, melhor atendida na ração, o que permite considerar que não ocorreu raquitismo carencial atribuído a hipocalcemia fisiológica leve ou hipercalcemia compensatória, em nenhum dos tratamentos estudados.

Os níveis séricos de cálcio e fósforo encontrados neste trabalho estão de acordo com SWENSON (1996) que afirmam que na maioria das espécies domésticas o soro

sanguíneo contém 9 a 11 mg/dL de cálcio e 4 a 7 mg/dL de fósforo. SILVA et al. (2002) obtiveram valores similares quando alimentaram pintos de corte com dietas básicas purificadas com vários níveis de ácido L-glutâmico e de vitamina D3, sendo que a concentração máxima obtida de cálcio no soro foi de 9,61 mg/dL. VIEITES et al. (2004) avaliaram o nível sanguíneo de cálcio aos 21 dias de idade em pintinhos de corte alimentados com rações à base de milho e soja com 20 e 23 % de proteína e obtiveram médias de concentrações de cálcio de 8,31 e 8,23 mg/dL respectivamente. As rações com suplementação da enzima celulase 1000 mL/ton na fase de 14 e 21 dias, apresentaram maior concentração deste íon.

SOUZA et al. (2004) alimentaram frangos de corte com rações à base de farelo de soja e milho, com vários níveis de cloreto de potássio e obtiveram concentrações médias de cloro e potássio de 106,37 e 6,16  $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente. As concentrações de cloro foram menores em todas as fases deste experimento e a concentração de potássio no soro foram maiores aos 14 e 21 dias, uma vez que o cloro sérico aumenta em virtude do aumento de temperatura ou estresse (BELAY & TEETER, 1993). Alterações nos valores de potássio têm graves consequências, relacionadas com fraqueza muscular, paralisia e efeitos cardíacos (HOCHLEITHNER, 1994).

A enzima fosfatase alcalina, liberada principalmente pelos osteoblastos para dentro da matriz óssea no processo de formação desta, tem facilidade de se difundir para o sangue e por isso é utilizada como indicador da taxa de formação óssea. Não foi observado diferença para o nível sérico de fosfatase alcalina das aves alimentadas com as diferentes dietas experimentais.

SILVA et al. (2002) obtiveram valores inferiores quando alimentaram pintos de corte com dietas básicas purificadas com vários níveis de ácido L-glutâmico (L-Glu) e de vitamina D, a concentração máxima obtida de fosfatase alcalina no soro foi de 221,2 UI/L. BORSA et al. (2006) demonstraram valores de atividade de FA para frangos de corte na fase pré-inicial alimentados com ração comercial de 1043 e 1324 UI/L para a segunda e terceira semanas respectivamente. Estes valores são numericamente muito maiores do que os obtidos nesse experimento.

Quando avaliados em conjunto os níveis de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, verificando que os níveis dos minerais e da enzima no soro foram mais expressivos na segunda semana de idade das aves, sugerindo maior demanda do metabolismo e adaptação da ave quanto a suplementação de enzima celulase na fase inicial.

A fosfatase alcalina teve sua concentração diminuída nas rações com

maior disponibilidade de cálcio (LORENZ, 1996).

A maioria das proteínas plasmáticas do sangue é formada no fígado. Estas fazem parte de 20% do sangue e além de serem nutrientes essenciais para a vida, têm as funções de manter a pressão osmótica, serem reguladoras do mecanismo ácido-base do sangue, serem transportadoras de hormônios e formarem parte importante das enzimas e imunoglobulinas. É importante medir as proteínas plasmáticas no sangue para detectar processos inflamatórios graves (NORIEGA, 2000).

A concentração normal sérica de proteínas totais no soro das aves varia de 3,0 a 6,0 g/dL. Assim, indica a normalidade nas três fases avaliadas, com suplementação da enzima celulase nas rações. Valores baixos ou hipoproteinemia estão associados a doenças hepáticas e nutricionais. Os valores encontrados para todas as fases de vida estão dentro da normalidade, portanto, indicam que não houve alteração hepática.

VIEITES et al. (2004) avaliaram o nível sanguíneo de proteína aos 21 dias de idade em pintinhos de corte alimentados com rações à base de milho e soja com 20% e 23% de proteína e obtiveram médias de concentrações ( $p > 0,05$ ) de proteína de 6,28 e 6,28 mg/dL respectivamente. CARDOSO & TESSARI (2003) alimentaram pintos machos com ração comercial à base de milho e soja e avaliaram por meio da metodologia de refratometria, a quantidade de proteína plasmática destas aves durante 52 semanas. Obtiveram valores de concentração de proteína de 3,00 e 3,68 g/dL na segunda e terceira semanas respectivamente e 3,30 g/dL na primeira semana, resultados similares foram encontrados nesse experimento.

Quando avaliado o cálcio e a proteína no soro, com suplementação da celulase em dietas para frango de corte nas fases de sete, 14 e 21 dias, não foram observados alterações. Um terço do cálcio (Ca) circulante nas aves está ligado a proteínas e é biologicamente inativo. As concentrações do Ca plasmáticas estão afetadas pelas concentrações plasmáticas de proteínas. A fração ionizada é importante considerando a deposição de sais de Ca e a excitabilidade de tecidos nervosos. Para a clínica aviária quando se avalia Ca total, é necessário avaliar também as proteínas totais, uma vez que suas alterações podem indicar a presença de um problema (Lumeij, 2008).

Existem poucos estudos sobre o perfil bioquímico sérico do soro de frango de corte com adição de celulase à dieta, dificultando a discussão dos resultados, requerendo assim novas pesquisas nesta área. Os resultados pesquisados poderão ser usados como referência para a comunidade científica, pois ainda não são conhecidos valores no soro para rações contendo suplementação de celulase.





## CONCLUSÕES

A suplementação da enzima celulase de *Humicola grisea* não afetou o desempenho e o metabolismo de frangos de corte de um a 21 dias de idade. No entanto, são necessárias mais pesquisas com este microrganismo, com a finalidade de entender de forma clara o modo de ação das enzimas por ele produzidas e seus benefícios na produção animal.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, A.A.; MÜLLER, E.S.; MORAES, G.H.K. UMIGI, T. R, BARRETO, T.S.L, FERREIRA, M.R. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.308-312, 2010.
- BELAY T, TEETER RG. Virginiamycin and caloric density effects on live performance, blood serum metabolite concentration and carcass composition of broilers reared in thermoneutral and cycling ambient temperatures. **Poultry Science** 1996; 75:1383-1392.
- BOLELI, I. C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: Ed.). **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 75-95.
- BORSA, A. KOHAYAGAWA, L. P.; BORETTI, M. E.; SAITO, M. E. KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.675-677, 2006.
- CAPITELLI, R.; CROSTA, L.. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 16, n. 1, p. 71–120, 2013.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Estudos dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n.4, p.419-424, 2003.
- ESONU, B.O.; AZUBUIKE, J.C.; EMENALOM, O.O. et al. Effect of enzyme supplementation on the performance of broiler finisher fed *Microdesmis puberula* leaf meal. **International Journal of Poultry Science**, v.3, n.2, p.112-114, 2004.
- FISCHER, G., MAIER, J.C., RUTZ, F., BERMUDEZ, V.L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.1, p.402- 410, 2002(suplemento).

FORTES, B. D. A. Avaliação de programas nutricionais com a utilização de carboidrases e fitase em rações de frangos de corte. **Ci. Anim. Bras.**, v.13, n.1, p. 24 - 32, 2012.

GRACIA, M.I.; ARANÍBAR, M.J.; LÁZARO, R.; MEDEL, P.; MATEOS, G.G.  $\alpha$ -amilase supplementation of broiler diets based on corn. **Poultry Science**, v.82, p.436-442, 2003.

GRUNKEMEYER, V. L. Advanced diagnostic approach management of avian hepatic disorders. **Veterinary Clinics Exotic Animal Practice**, Texas, v. 13, n. 3, p. 413-427, 2010.

GOVAERTS, T.; ROOM, G.; BUYSE, J. ET AL. **British Poultry Science**, v.41, n.3, p.355-362, 2000

HOCHLEITHNER, M. Biochemistries In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L. R. Avian medicine: principles and application. **Lake Worth: Wingers Publishing**, 1994. p. 176-198.

JÓZEFIAK, D. RUTKOWSKI, A. JENSEN, B.B. ENGBERG, R.M. Effects of dietary inclusion of triticale, rye and wheat and xylanase supplementation on growth performance of broiler chickens and fermentation in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.132, p. 79-93,2007.

KANASHIRO, A. M. I.; BOTTINO, J. A.; FERREIRA, F.; CASTRO, A. G. M.; FERREIRA, A. J. P. Influência da administração contínua de probiótico a frangos de corte sobre atividades enzimáticas séricas e concentração de colesterol sérico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.68, n.2, p.11-17, 2001.

KRÁS, V. R. Efeito do nível de fibra da dieta, da linhagem e da idade sobre desempenho, balanço energético e o metabolismo da digesta em frangos de corte. p. 88, **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** – Universidade Federal do Rio grande do sul Porto Alegre, 2010

LEITE, P. R. S. C. Digestibilidade dos nutrientes da ração e desempenho de frangos de corte alimentados com rações formuladas com milho ou sorgo e suplementadas com enzimas. **Revista Brasileira de zootecnia**, 2011.

LIMA, A. C. F.; MACARI, M.; PIZAURO JÚNIOR, J. M.; MALHEIROS, E. B. Atividade enzimática pancreática de frangos de corte alimentados com dietas contendo enzima ou probiótico. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 187-193, 2002.

LORENZ, M. D. Atraso do crescimento. In: Lorenz, M. D.; CORNELIUS, L. M. **Diagnóstico clínico de pequenos animais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996, cap. 12, p. 72-77.

LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. p 839-872.

MARQUES, F. F. S. Biotecnologia Enzimática: Produção de Complexo Multienzimático de *Trichoderma harzianum* e sua aplicação na alimentação de frango de corte. p. 96, **Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)** – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

MATTERSON, L.S.; POTTER, L.M.; STUTZ, M.W. et al. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. **Agricultural Experiment Station Research Report**, University of Connecticut Storrs, v.11, 1965. 11p.

MENEGHETTI, C.; JÚNIOR, A.P.G.; SALDANHA, M.M. Carboidrases exógenas em rações para frangos de corte. **Revista Eletrônica de Pesquisa Animal**, v.02, n.01, p.34-46, 2014.

MINAFRA, C. S.; MARQUES, S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C. J.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, J. S.; MORAES, G. H. K. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus Níger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2691-2696, 2010.

NORIEGA, M. L. V. C. Apuntes de hematologia, México: Departamento de produção animal de Universidade Nacional Autônoma do México, 2000. 70p. [Apostila].

NOY, Y. & SKLAN, D. Nutrient use in chicks during the first week posthatch. **Poultry Science**, v.81, n.3, p.391-399, 2002.

NUNES, J. K.; MAIER, J.C, GONÇALVES, F.M, GENTILINI, F. P, ANCIUTI, M. A, RUTZ, F. Desempenho produtivo de frangos de corte alimentados com farinha de batata doce em substituição parcial ao milho, com ou sem suplementação enzimática. **Arquivos Veterinária**, v.26, n.3, p.170-177, 2011.

OLIVEIRA, M. C.; MORAES, V. M. B. Mananoligossacarídeos e complexo enzimático em dietas para frango de corte. **Revista Brasileira de zootecnia**, v.38, n.5, p.879-886, 2009.

PEREIRA, Z. W. P; MENTEN, M. F. J; RACANICCI, C. M. L; ANA BEATRIZ TRALDI, B. A; SILVA, S. C; RIZZO, V. P. Avaliação de complexo enzimático e betaína natural em rações para frangos de corte criados em aviário comercial. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, 2010.

PETTERSSON, D.; FRIGARD, T.; AMAN, P. In vitro e in vivo studies on digestion of dietary fibre components in a broiler chicken diet based on rye. **Journal of Science Food and Agriculture**, Amsterdam, v. 66, p. 267-272, 1994.

PINHEIRO, C. C. REGO, C. C. J. RAMOS, A. T. SILVA, R. K. B. WARPECHOWSKI, B. M. Digestibilidade dos nutrientes e desempenho de frangos de

corte consumindo dietas formuladas com diferentes níveis de fibra e suplementadas com enzimas exógenas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 984-996, 2008.

PINHEIRO, D.F.; CRUZ, V.C.; SARTORI, J.R. et al. Effect of early feed restriction and enzyme supplementation on digestive enzyme activities in broilers. **Poultry Science**, v.83, n.9, p.1544-1550, 2004.

RIBEIRO, T.; LORDELO, M.M.; PONTE, P.I.; MAÇÃS, B.; PRATES, J.A.; AGUIAR, F.M.; FALCÃO, L.; FREIRE, J.P.; FERREIRA, L.M.; FONTES, C.M. Levels of endogenous  $\beta$ - glucanase activity in barley affect the efficacy of exogenous enzymes used to supplement barley-based diets for poultry. **Poultry Science**. v. 90, n.6, p.2010-01218, 2011.

RODRIGUES, P.B.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; GOMES, P.C.; BARBOZA, W.A.; TOLEDO, R.S. Desempenho de frangos de corte, digestibilidade de nutrientes e valores energéticos de rações formuladas com vários milhos, suplementadas com enzimas, **Revista brasileira de zootecnia**, v.32, p. 171-182, 2003.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011.

SAEG. **Sistema de análise estatísticas e genéticas, versão 9.5**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007.

SAKAMOTO, M. I.; FARIA, D. E.; NAKAGI, V. S.; NEGRÃO, J. A.; ARAÚJO, R. B.; SOUZA, K. M. R.; PREVIERO, T. C. Utilização de glutamina, associada ao ácido glutâmico, sobre o desenvolvimento e a atividade enzimática em frangos de corte **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 4, p. 962-972, 2011.

SILVA, D. J & QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**, 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa – Imprensa Universitária, 2002, p. 165.

SILVA, F. A.; MORAIS, G. H. K.; RODRIGUES, A. C. P.; FONSECA, C. C.; OLIVEIRA, M. G. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; FREITAS, H. T. Composição química do soro de pintos de corte alimentados com dietas purificadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n.4, p. 1783-1788, 2002.

SIMON, O.; HÜBENER, K.; HIRSCH, K.; BECKMANN, L.; VAHJEN, W. Effect of xylanaes on the intestinal flora. **Lohmann Information**, n.27, p.1-5, 2002.

SOUZA, B. B.; BERTECHINI, A. G. ; SANTOS, C. D. LIMA, J. A. F.; TEIXEIRA, A. S.; FREITAS, R. T. F. Balanço de potássio e desempenho de frangos de corte suplementados com KCl no verão. **Ciência Agrotécnica**, v 28, n. 5, p. 1160-1168, 2004.

STRADA, E. S.o., ABREU, R. D., OLIVEIRA, G. J. C., COSTA, M. C. M. M., CARBALHO, G. J. L., FRANCA, A. S., CLAITON, L. Uso de enzimas na alimentação de frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2369-2375,2005.

STRINGHINI, J.H.; RESENDE, A.; CAFÉ, M.B. et al. Efeito do peso inicial e do período de fornecimento da dieta pré-inicial sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p353-360, 2003.

SWENSON, M. J. D. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996.856p.

TANG, F.; MESSINGER, S.; CRAY, C. Use of an indirect sampling method to produce reference intervals for hematologic and biochemical analyses in psittaciform species. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, Boca Raton, v. 27, n. 3, p. 194–203, 2013.

TAVERNARI, F. C. & MENDES, A. M. P. Desenvolvimento, crescimento e características do sistema digestório de aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, [on line], v. 6, n. 6, 2009.

TORRES, D.M.; TEIXEIRA, A.S.; RODRIGUES, P.B. et al. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, p.1401-1408, 2003.

VIEITES, F. M.; MORAES, G. H. K.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; RODRIGUES, A. C.; SILVA, F. Á.; ATENCIO, A. Balanço eletrolítico e níveis de proteína bruta sobre parâmetros sanguíneos e ósseos de frangos de corte aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 6, p. 1520-1530, 2004..

WANG, Z.R. QIAO, S. Y. LU, W. Q. LI, D. F. Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p. 875-881, 2005.