

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALANA BRUNA SERRAGLIO

EFEITO DAS ENZIMAS B-MANANASE E MURAMIDASE NA DIGESTIBILIDADE
DAS DIETAS E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

CURITIBA

2024

ALANA BRUNA SERRAGLIO

EFEITO DAS ENZIMAS B-MANANASE E MURAMIDASE NA DIGESTIBILIDADE
DAS DIETAS E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Simone Gisele de Oliveira
Coorientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

CURITIBA
2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Serraglio, Alana Bruna

Efeito das enzimas β -Mananase e Muramidase na digestibilidade e desempenho de frangos de corte / Alana Bruna Serraglio. – Curitiba, 2024.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Profª Drª Simone Gisele de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

1. Nutrição animal. 2. Digestibilidade. 3. Frango de corte.
4. Enzima digestiva. I. Oliveira, Simone Gisele de. II. Maiorka, Alex.
III. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. IV. Título.

Bibliotecária: Ana Camila Quaresma Moura CRB-9/2212



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS - 40001016023P3

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ALANA BRUNA SERRAGLIO** intitulada: **EFEITO DAS ENZIMAS β -MANANASE E MURAMIDASE NA DIGESTIBILIDADE E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE**, sob orientação da Profa. Dra. SIMONE GISELE DE OLIVEIRA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 19 de Novembro de 2024.

Assinatura Eletrônica

21/11/2024 14:02:35.0

SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

21/11/2024 16:36:09.0

RAFAEL FERNANDO SENS

Avaliador Externo (DSM - NUTRITIONAL PRODUCTS)

Assinatura Eletrônica

21/11/2024 13:55:52.0

ANANDA PORTELLA FÉLIX

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RUA DOS FUNCIONÁRIOS, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80035050 - Tel: (41) 3350-5621 - E-mail: cpgcv@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 413621

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 413621

Dedico este trabalho aos meus pais, Adir e Eliamar

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha mais profunda gratidão aos meus pais, Adir e Eliamar, vocês são os maiores exemplos de força, coragem e determinação. Nunca mediram esforços para me oferecer tudo aquilo que não tiveram. Como Richard Bach escreveu: “podem os quilômetros separar-nos? Se você quer muito estar com alguém a quem ama, já não está lá?”. Mesmo à distância, vocês estão sempre comigo.

Aos meus irmãos, Bruno e Alan, meu sincero agradecimento. Os conselhos de vocês sempre vieram carregados de verdade e foram minha bússola em muitos momentos.

Ao meu companheiro, Eduardo, sou eternamente grata pela paciência, pelo apoio e pelos conselhos psicanalíticos que me guiaram durante este período. Sua presença foi meu porto seguro nas tempestades.

Aos meus companheiros de quatro patas, Susi, Bilu, Mel e Lala, embora não estejam mais aqui, o amor sincero e incondicional que recebi de vocês faz parte de quem sou. Agradecimento especial à minha companheira Lola, cuja presença nesta reta final foi fonte de calma e conforto.

À minha orientadora, Simone, minha imensa gratidão não só pelo conhecimento compartilhado, mas também pela empatia e compreensão ao longo de toda essa jornada. Você me ajudou a crescer como profissional e, ainda mais, como pessoa. Sua maneira de ser e de tratar as pessoas é uma inspiração constante.

Aos professores Alex e Ananda, minha gratidão pelos conselhos generosos e pelos ensinamentos transmitidos com tanta humildade.

Às minhas amigas de infância, Nadinne e Amanda, aos amigos que a Universidade Federal de Santa Maria me presenteou, Alessandra, Andressa, Camila, Diulia, Eduarda, Jenifer, Juliane e Valentina e a todos os amigos do grupo “Quilmes”. Obrigada por sempre me ouvirem, pelos conselhos, pelas risadas e pelo apoio.

Aos membros do Laboratório de Nutrição Animal (LNA) e do Laboratório de Pesquisa em Nutrição de Aves e Suínos (LEPNAN), incluindo alunos de pós-graduação e estagiários, minha gratidão pela colaboração no experimento que deu origem a esse trabalho.

Agradeço ao CNPQ pela concessão da bolsa, à Universidade Federal do Paraná (UFPR) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV-UFPR) pela oportunidade e pelo suporte durante essa etapa.

A cada um de vocês, minha gratidão eterna. Este trabalho é reflexo apoio que recebi de todos.

Somos seres desejantes destinados a incompletude, e é isso que nos faz caminhar.

Jacques Lacan

RESUMO

A funcionalidade intestinal de frangos de corte, essencial para sua saúde e desempenho, é amplamente modulada pela interação entre a microbiota e o trato gastrointestinal. Fatores dietéticos, como polissacarídeos não amiláceos (PNAs) e peptidoglicanos (PGNs), podem desestabilizar esse equilíbrio, dificultando a digestão e desencadeando respostas inflamatórias. Os PNAs, presentes nas paredes celulares dos ingredientes, aumentam a viscosidade intestinal, prejudicando a absorção de nutrientes, enquanto os PGNs, provenientes de bactérias inativas, exacerbam a resposta inflamatória ao induzir a liberação de citocinas pró inflamatórias. Enzimas como β -mananase e muramidase foram estudadas quanto ao potencial de mitigar esses efeitos. Neste estudo, 900 frangos Ross 308 foram divididos em quatro grupos: controle, β -mananase, muramidase e a combinação de ambas (todas com 100 kcal a menos em relação a dieta controle), com o objetivo de avaliar os efeitos dessas enzimas no desempenho, digestibilidade e qualidade da cama. O grupo com muramidase apresentou melhor conversão alimentar, maior digestibilidade da matéria orgânica e energia, além de menor gordura corporal. A dieta com enzimas manteve o desempenho produtivo e os rendimentos de carcaça e cortes em níveis próximos ao controle, indicando potencial na otimização da performance produtiva dos frangos de corte. Quando isoladas ainda promoveram a redução do pH, sugerindo um ambiente com menor risco de proliferação de patógenos.

Palavras-chave: Funcionalidade. Peptidoglicanos. Polissacarídeos não amiláceos.

ABSTRACT

The intestinal functionality of broilers, which is essential for their health and performance, is largely modulated by the interaction between the microbiota and the gastrointestinal tract. Dietary factors such as non-starch polysaccharides (NSPs) and peptidoglycans (PGNs) can destabilize this balance, hindering digestion and triggering inflammatory responses. PNAs, present in the cell walls of ingredients, increase intestinal viscosity, impairing nutrient absorption, while PGNs, originating from inactive bacteria, exacerbate the inflammatory response by inducing the release of pro-inflammatory cytokines. Enzymes such as β -mannanase and muramidase have been studied for their potential to mitigate these effects. In this study, 900 Ross 308 chickens were divided into four groups: control, β -mannanase, muramidase and a combination of both (all with 100 kcal less than the control diet), with the aim of evaluating the effects of these enzymes on performance, digestibility and litter quality. The muramidase group showed better feed conversion, higher digestibility of organic matter and energy, as well as lower body fat. The diet with enzymes maintained production performance and carcass and cut yields at levels close to the control, indicating potential for optimizing broiler production performance. When isolated, they also promoted a reduction in pH, suggesting an environment with a lower risk of pathogen proliferation.

Keywords: Functionality. Peptidoglycans. Non-starch polysaccharides.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Avaliação do pH da cama aos 18 (pH18) e 39 dias (pH39).....46

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Ingredientes e composição química na matéria natural das dietas experimentais.....	42
TABELA 2 – Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, sobre os coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CDIA) da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e energia de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.....	45
TABELA 3 – Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, no desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.....	46
TABELA 4 – Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, no rendimento de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa e gordura de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.....	47
TABELA 5 – Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, sobre a concentração de nitrogênio (N) e fósforo (P), coeficiente de resíduo (Cr) e temperatura da cama.....	48

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	16
1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 INTERFERENTES DA FUNCIONALIDADE INTESTINAL.....	18
2.1.1 Peptidoglicanos	19
2.1.2 Polissacarídeos não amiláceos	20
2.1.3 β -mananos	21
2.2 ENZIMAS	24
2.3 MURAMIDASE	24
2.3.1 Mecanismo de ação	25
2.3.2 Impactos na digestibilidade de nutrientes e no desempenho zootécnico	25
2.4 B-MANANASE.....	26
2.4.1 Mecanismo de ação	27
2.4.2 Impactos na digestibilidade de nutrientes e no desempenho zootécnico	28
2.5 ENZIMA E MITIGAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL.....	29
2.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO II	37
1 INTRODUÇÃO	39
2 MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1.1 Animais e local dos experimentos	40
2.2 DELINEAMENTOS E DIETAS EXPERIMENTAIS	41
2.3 VARIÁVEIS ANALISADAS	42
2.3.1 Desempenho zootécnico	42
2.3.2 Digestibilidade ileal	43
2.3.3 Qualidade de cama	44
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
3 RESULTADOS	45
4 DISCUSSÃO	48
5 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	50

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A utilização de aditivos na nutrição animal visa otimizar a absorção de nutrientes, resultando em maior eficiência econômica e melhor desempenho dos animais. As enzimas, amplamente empregadas em diversas espécies, desempenham um papel crucial ao favorecer a funcionalidade intestinal, essencial para a digestão e absorção dos nutrientes. A presença de interferentes na dieta, como polissacarídeos não amiláceos (PNAs) e peptidoglicanos (PGNs), pode comprometer essa funcionalidade, aumentando a viscosidade intestinal e promovendo respostas inflamatórias exacerbadas. Enzimas específicas, como β -mananase e muramidase, atuam na degradação desses compostos, promovendo um ambiente intestinal mais saudável e eficiente na absorção de nutrientes. Assim, o uso dessas enzimas não só melhora o desempenho dos animais, mas também reduz a excreção de nutrientes como nitrogênio e fósforo, diminuindo o impacto ambiental, como a contaminação de aquíferos e a eutrofização, que afetam negativamente a biodiversidade (Guenter, 2002; Hsiao et al., 2006; Machado et al., 2010; Ravindran, 2013; Moura et al., 2019; Wang et al., 2021).

A β -mananase, por exemplo, hidrolisa β -mananos, PNAs solúveis presentes nas paredes celulares de plantas como a soja, amplamente utilizada na dieta de frangos de corte. Esses animais carecem de enzimas endógenas capazes de degradar esses compostos, resultando em perdas de energia e proteínas, uma vez que os carboidratos complexos presentes nos β -mananos se ligam às proteínas das paredes celulares das plantas. Além disso, a presença de manose, o principal açúcar presente nos β -mananos, na superfície de microrganismos patogênicos, como fungos, bactérias e vírus, pode induzir um falso sinal sobre a presença de patógenos, ativando uma resposta imune desnecessária. A hidrólise dos β -mananos pela β -mananase gera frações menores que não apenas fornecem energia adicional, mas também evitam a liberação de citocinas pró inflamatórias e reduzem a viscosidade intestinal, melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Lee et al., 2003; Hsiao et al., 2006; Mehri et al., 2010; Kong et al., 2011; Mussini et al., 2011; Poulsen et al., 2022; Sacakli et al., 2024).

A muramidase, por sua vez, catalisa a degradação de PGNs, fragmentos bacterianos não vivos, gerando o muramil dipeptídeo (MDP), um metabólito bioativo com

a capacidade de ativar os receptores intracelulares NOD2 nas células epiteliais intestinais. Essa ativação desencadeia uma cascata de sinalização que resulta na produção de citocinas anti-inflamatórias, promovendo uma resposta imunológica regulada e a manutenção da homeostase intestinal. Embora o mecanismo exato ainda não seja compreendido, esses efeitos podem melhorar a digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho dos frangos de corte, ao minimizar a interferência dos PGNs na absorção de nutrientes (Girardin et al., 2003; Strober et al., 2006; Wang et al., 2021; Goes et al., 2022).

Com o aumento da produção de frangos no Brasil, há também um incremento na geração de resíduos, o que exige atenção quanto ao seu manejo ambiental. A cama de frango, por exemplo, é um subproduto significativo dessa produção, já que é o material utilizado para o manejo das aves durante todo o ciclo produtivo (Atapattu et al., 2008). Portanto, é essencial adotar recursos que assegurem a produtividade e eficiência econômica do sistema, ao mesmo tempo em que minimizam a geração de resíduos poluentes. A utilização das enzimas β -mananase e muramidase surge como uma estratégia promissora para reduzir o impacto ambiental associado à produção de proteína de origem animal. Além disso, este estudo inova ao avaliar a aplicação conjunta das enzimas β -mananase e muramidase em dietas de frangos de corte, abordagem inédita na literatura.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos individuais da β -mananase e da muramidase na dieta de frangos de corte, bem como investigar quais os efeitos dessas enzimas quando combinadas sobre o desempenho zootécnico, rendimento de carcaça, digestibilidade de nutrientes e parâmetros de qualidade de cama.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INTERFERENTES DA FUNCIONALIDADE INTESTINAL

A funcionalidade intestinal ideal em frangos de corte ocorre quando há um estado de equilíbrio entre o microbioma e o trato gastrointestinal do hospedeiro, permitindo o desempenho eficiente de funções fisiológicas cruciais e contribuindo para a saúde, bem-estar e desempenho das aves (Celi et al., 2017). Esse equilíbrio é influenciado por diversos fatores internos e externos, incluindo a qualidade e a composição dos ingredientes, o ambiente e o manejo. Além disso é constantemente ameaçado por três mecanismos interconectados: disbiose, permeabilidade da barreira mucosa e inflamação (Figueira et al., 2014). A dieta desempenha papel fundamental nesse contexto, modulando a microbiota e favorecendo o desenvolvimento muscular das aves (Yeoman et al., 2012).

A dieta também pode introduzir interferentes que afetam negativamente a funcionalidade intestinal, como antinutrientes, incluindo PNAs, fitatos, lectinas e micotoxinas. Esses compostos podem dificultar a digestibilidade e a absorção de nutrientes, prejudicando o crescimento e o desempenho das aves. A integridade da barreira mucosa é outro aspecto crítico; quando os enterócitos são danificados, a absorção de nutrientes é reduzida, e substâncias tóxicas e microrganismos conseguem atravessar essa barreira, provocando respostas inflamatórias que demandam energia significativa e, assim, comprometem a eficiência alimentar. Adicionalmente, a presença de PGNs, componentes das paredes celulares de bactérias inativas, intensifica a liberação de citocinas pró-inflamatórias e compete com nutrientes no trato gastrointestinal, reduzindo ainda mais a digestibilidade (Awad et al., 2017; Morgan, 2017; Celi et al., 2017; Lee & Hase, 2014).

Para minimizar os efeitos desses interferentes e evitar que eles comprometam a funcionalidade intestinal, é crucial adotar uma abordagem integrada que, além de mitigar o impacto dos antinutrientes, estabilize a microbiota e fortaleça a barreira intestinal. Essa estratégia contribui para um ambiente gastrointestinal mais saudável, maximizando o desempenho zootécnico dos frangos de corte e promovendo uma produção mais eficiente e sustentável (Klasing, 1998; Celi et al., 2017).

2.1.1 Peptidoglicanos

Peptidoglicanos (PGNs) são heteropolímeros complexos essenciais para a integridade estrutural das bactérias. Além de assegurar sua forma e estabilidade, funcionam como uma barreira contra ameaças físicas, químicas e biológicas (Rogers et al., 1980). A estrutura do PGN é formada por cadeias alternadas de N-acetilglicosamina (GluNAc) e ácido N-acetilmurâmico (MurNAc), interligadas por ligações β -1,4 e estabilizadas por pontes peptídicas, proporcionando uma matriz rígida e insolúvel (Phillips, 1966). Essa estrutura é altamente conservada em termos de constituição básica, mas exibe variações nas cadeias peptídicas e nos padrões de interconexão, o que confere especificidade entre diferentes espécies bacterianas (Alcorlo et al., 2017). Além disso, são macromoléculas dinâmicas que podem passar por remodelações contínuas em resposta a alterações no ambiente (Horcajo et al., 2012). O PGN também funciona como suporte para a fixação de outros componentes, como proteínas (Dramsi et al., 2008) e ácidos teicóicos (Neuhaus e Baddiley, 2003).

Nas bactérias Gram-positivas, os PGNs compõem cerca de 50% do peso celular seco e apresentam uma espessa parede celular com várias camadas que, além de estruturalmente estável, permite a difusão de muitas moléculas. Em contraste, as Gram-negativas possuem uma camada mais fina de PGNs, localizada no espaço periplásmico e protegida por uma membrana externa que limita a difusão de moléculas grandes, conferindo maior resistência a agentes antimicrobianos (Duarte, 2011).

No lúmen intestinal de frangos de corte, a liberação de fragmentos de PGNs pelas bactérias, incluindo simbioses, patógenos e patobiontes, pode influenciar significativamente a digestão e a resposta imune do hospedeiro. Esses fragmentos são reconhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), principalmente por receptores do tipo Toll (TLRs: Toll-like receptors) e receptores NOD (Nucleotide-binding Oligomerization Domain) presentes nas células epiteliais intestinais, ativando vias de sinalização que desencadeiam uma série de respostas imunológicas no hospedeiro. Com a ativação dessas vias, há indução da produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs), como β -defensinas, além da secreção de citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores essenciais para a defesa contra infecções. Embora a síntese controlada de AMPs contribua para a eliminação de patógenos e a manutenção da homeostase intestinal, a estimulação contínua dos receptores de reconhecimento de padrões, provocada por concentrações elevadas de PGNs no lúmen intestinal, resulta em uma resposta inflamatória exacerbada (Lee e Hase, 2014).

Esse estado de inflamação crônica induz a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS), que, por sua vez, comprometem a integridade da mucosa intestinal. Esse aumento da permeabilidade facilita a translocação de bactérias e toxinas para o interior do organismo, favorecendo o desenvolvimento de condições patológicas no local e resultando em prejuízos diretos à digestão e absorção de nutrientes. Adicionalmente, a inflamação contínua e o aumento do estresse oxidativo elevam o consumo energético, desviando recursos que seriam utilizados para o crescimento e produção (Broom e Kogut, 2018; Goodarzi Boroojeni et al., 2019).

Embora os efeitos negativos sobre a funcionalidade intestinal sejam evidentes, os mecanismos específicos por meio dos quais os PGNs causam esses impactos ainda não são completamente compreendidos (Goes et al., 2022). Entretanto, é evidente que a resposta aos PGNs deve ser regulada de maneira precisa para evitar disbiose e inflamação crônica, que podem prejudicar a eficiência alimentar dos frangos de corte. A compreensão detalhada dos mecanismos pelos quais os PGNs afetam a homeostase intestinal é fundamental para o desenvolvimento de estratégias nutricionais e imunomoduladoras que maximizem a funcionalidade intestinal e a produtividade das aves sob condições comerciais.

2.1.2 Polissacarídeos não amiláceos

No Brasil, a alimentação de aves é predominantemente feita a partir de milho e farelo de soja, dois ingredientes essenciais para o fornecimento de energia e proteína. O milho é uma fonte eficiente de amido, contudo, nem todos os seus nutrientes são aproveitados pelas aves devido à presença de PNAs. Esses compostos, que fazem parte da estrutura da parede celular das plantas, são classificados em solúveis e insolúveis, conforme sua capacidade de formar soluções homogêneas ou heterogêneas em água (Lima e Viola, 2001). Aproximadamente 8% dos componentes do milho são PNA's, 6% insolúveis, sendo a maior parte constituída por arabinoxilanos (Smits & Annison, 1996; Bertechini & Brito, 2007). Já o farelo de soja, uma fonte de proteína de alta qualidade, contém cerca de 27% de PNA's, com 6% na forma solúvel (Smits & Annison, 1996).

Os polissacarídeos são formados por monossacarídeos conectados por ligações glicosídicas, cuja estrutura afeta diretamente a sua digestibilidade no trato gastrointestinal das aves (Choct, 1997; Nelson & Cox, 2002). Além disso, a composição

de PNA's pode variar entre diferentes cereais e cultivares, assim como em função das condições climáticas durante o cultivo, influenciando a digestibilidade e o valor energético dos grãos (Jha et al., 2011). As consequências da ingestão de PNA's incluem alterações no tempo de trânsito intestinal, modificações na estrutura da mucosa e na regulação hormonal, o que compromete a absorção de nutrientes e, consequentemente, o desempenho zootécnico (Conte et al., 2003).

Os PNA's solúveis, como gomas, pectinas e grande parte das hemiceluloses, são especialmente prejudiciais por aumentarem a viscosidade do conteúdo intestinal, o que dificulta a ação das enzimas digestivas e a subsequente absorção de nutrientes (Van Der Klis & Van Voorst, 1993; Choct, 1997; Oliveira et al., 2007; Tavernari et al., 2008). Por outro lado, os PNA's insolúveis, como a celulose, a lignina e algumas hemiceluloses, embora menos prejudiciais, também podem comprometer a digestão quando presentes em grandes quantidades. Estes compostos aceleram o trânsito do quimo pelo trato digestivo, reduzindo o tempo disponível para a ação das enzimas sobre a digesta (Warpechowski, 1996). No entanto, quando consumidos em quantidades moderadas, podem ter efeitos benéficos ao retardar o trânsito intestinal, o que favorece a absorção de nutrientes (Bertechini, 2006).

2.1.3 β -mananos

Os β -mananos são uma classe de PNAs, caracterizados por sua solubilidade em água, e constituem um componente essencial da hemicelulose presente em leguminosas (Dhawan e Kaur, 2007). Essas moléculas são formadas por estruturas lineares compostas por repetidas ligações de β -1,4-manose, 1-6 galactoses e glicose unidas a uma cadeia principal β -manana, formando estruturas complexas. Dependendo das interações entre esses resíduos, os β -mananos podem se apresentar em diferentes formas nas plantas, sendo classificadas como glucomanano, galactomanano e glucogalactomanano (Aman & Graham, 1990). A presença desses compostos em ingredientes vegetais, embora comum, tem sido amplamente estudada devido aos seus efeitos antinutricionais (Poulsen et al., 2022).

Entre os impactos negativos associados aos β -mananos, destaca-se sua capacidade de aumentar a viscosidade do conteúdo intestinal. Essa elevação na viscosidade interfere diretamente na eficiência do processo digestivo, uma vez que dificulta o contato das enzimas digestivas com seus substratos, comprometendo a absorção

adequada de nutrientes (Hsiao et al., 2006). Além disso, a alta viscosidade promove um ambiente propício para o crescimento de bactérias indesejáveis no intestino, o que pode resultar em desequilíbrios na microbiota intestinal e no comprometimento da funcionalidade digestiva das aves. Tais condições não apenas reduzem a eficiência alimentar, mas também aumentam a incidência de distúrbios intestinais e o volume de excreção, o que pode impactar negativamente o desempenho zootécnico, a sustentabilidade da cadeia produtiva e elevar os riscos sanitários (Hsiao et al., 2006; Dhawan e Kaur, 2007).

A complexidade estrutural dos β -mananos também influencia sua resistência à ação das enzimas digestivas endógenas das aves, o que agrava ainda mais os efeitos antinutricionais (Aman & Graham, 1990). Sua interação com o glicocálix intestinal espessa a camada de muco, promovendo a proliferação de microrganismos que podem degradar sais biliares, prejudicando a absorção de lipídios e aminoácidos (Smits & Annison, 1996). Além disso, a β -galactomanana pode levar a um aumento dos órgãos digestivos, aumentando a taxa de secreção pancreática e a utilização de energia dietética e aminoácidos para manutenção devido a deposição tecidual (Jackson, 2001).

Embora a concentração de β -mananos nas dietas à base de milho e farelo de soja seja relativamente baixa, esses compostos ainda têm efeitos antinutricionais significativos (Kiarie et al., 2021). No farelo de soja, a quantidade de β -mananos é predominantemente associada às frações de casca, com concentrações que variam entre 0,7% da matéria seca (MS) no farelo de soja descascado (com cerca de 48% de proteína bruta) e até 2,1% de MS no farelo de soja com menor teor proteico (com cerca de 44% de proteína bruta). Essa variação nas concentrações de β -mananos reflete sua maior presença nas camadas externas do grão, onde estão localizados. Há ainda estudos que indicam que as concentrações de β -mananos no farelo de soja podem variar de 1,26% a 2,22%, dependendo da fração de casca presente e do teor de β -galactomananos. Por outro lado, os β -mananos no milho são menos prevalentes, correspondendo a apenas 0,2% a 0,3% da matéria seca. Enquanto em subprodutos derivados do milho, como o grão seco de destilaria com solúveis (DDGS), as concentrações de β -mananos podem variar entre 0,47% e 2% de MS. (Hsiao et al., 2006; Kiarie et al., 2021).

A manose, principal açúcar encontrado nos β -mananos também pode ser encontrada na superfície celular de diversos patógenos, incluindo fungos, bactérias e vírus. Devido à sua presença na superfície desses agentes infecciosos, eles são classificados como PAMPs, assim como os PGNs, elementos reconhecidos pelo sistema imunológico inato. Esse reconhecimento é fundamental para a defesa contra patógenos, no entanto, a ingestão de β -mananos pode, precipitadamente, desencadear uma resposta imune, resultando em inflamação desnecessária (Hsiao et al., 2006; Poulsen et al., 2022; Sacakli et al., 2024).

Estudos mostram que a presença de β -mananos no intestino pode aumentar a proliferação de células imunológicas, como monócitos e macrófagos, e intensificar a produção de citocinas pró-inflamatórias (Olmeda-Geniec et al., 2015). Esse quadro inflamatório resulta na liberação de citocinas, como IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF), que desempenham um papel central na regulação da resposta inflamatória. Embora essas moléculas sejam essenciais para combater infecções, sua ativação em resposta à ingestão de β -mananos não patogênicos desvia recursos energéticos que poderiam ser direcionados ao crescimento e desenvolvimento do animal (Zhang e Tizard, 1996; Poulsen et al., 2022; Sacakli et al., 2024).

As citocinas pró-inflamatórias ainda influenciam diretamente a integridade do epitélio intestinal. Elas modulam a produção de proteínas de fase aguda (PFA) e afetam as proteínas de junção epitelial, como as claudinas e ocludinas, responsáveis pela manutenção da barreira intestinal (Capaldo e Nusrat, 2009). Alterações na permeabilidade intestinal devido à inflamação podem comprometer a absorção de nutrientes, prejudicando ainda mais o desempenho animal (Olmeda-Geniec et al., 2015).

A eliminação desses compostos presentes na ração é complexa, devido a resistência a tratamentos químicos e físicos (Quadros, 2019). Assim, a suplementação com β -mananase exógena se mostra necessária para atenuar os efeitos adversos dos β -mananos, auxiliando na digestão e absorção de nutrientes, e minimizando a ativação desnecessária do sistema imune, favorecendo o desempenho e a saúde dos animais (Hsiao et al., 2006).

2.2 ENZIMAS

As enzimas adicionadas à nutrição animal não exercem um papel nutricional direto, mas atuam auxiliando a digestão ao melhorar a disponibilidade dos nutrientes

contidos na dieta. Essas proteínas, com estruturas globulares e complexas, funcionam como catalisadores biológicos, acelerando reações químicas no organismo sem sofrerem degradações durante o processo. De natureza altamente específica, enzimas interagem com substratos determinados, coordenando os eventos metabólicos e, em condições ideais de temperatura, pH e umidade, promovem a quebra de ligações químicas específicas (Champe & Harvey, 1989; Penz Júnior, 1998 citados por Campestrini et al., 2005).

As enzimas utilizadas nas dietas de animais podem ser classificadas em duas categorias: (1) enzimas que complementam as enzimas digestivas endógenas (como proteases e amilases) e (2) enzimas que os animais sintetizam em proporções limitadas ou não produzem, como β -glucanases, pentosanas e α -galactosidases. Ainda conforme Guenter (2002, citado por Campestrini et al., 2005), os objetivos da suplementação com enzimas são eliminar fatores antinutricionais dos ingredientes vegetais, melhorar a digestibilidade total da dieta, potencializar a atividade das enzimas endógenas e reduzir a contaminação ambiental gerada pela excreção de nutrientes não digeridos.

O mercado de enzimas para nutrição animal tem se expandido rapidamente, impulsionada pelas variações constantes nos preços dos ingredientes e pela necessidade de minimizar os impactos ambientais da produção (Guenter, 2002; Ravindran, 2013). Em animais monogástricos, a inclusão de enzimas exógenas, como β -glucanases, pentosanas e α -galactosidases, facilita a degradação de PNAs, diminuindo a viscosidade intestinal e melhorando a digestão e a absorção de nutrientes (Opalinski, 2006; Zanella et al., 1999). Assim, a suplementação enzimática na dieta permite reduzir a dependência de fontes proteicas e energéticas de alto custo (Adeola & Cowieson, 2011).

2.3 MURAMIDASE

As muramidases, também conhecidas como lisozimas ou N-acetilmuramidases, pertencem à classe de enzimas hidrolíticas glicosídicas e possuem um mecanismo de ação específico sobre os PGNs das paredes celulares bacterianas (Gajda et al., 2014). Diferente de enzimas com ação antimicrobiana direta, as muramidases

não afetam diretamente a viabilidade das bactérias intestinais. Em vez disso, elas modulam a interação entre o organismo hospedeiro e fragmentos bacterianos não vivos, uma vez que o sítio de ação da muramidase nos PGNs torna-se acessível apenas após a morte celular bacteriana (Humann & Lenz, 2009). Com isso, a muramidase contribui para a regulação da resposta imunológica local, ajudando a minimizar inflamações excessivas e a manter um ambiente intestinal equilibrado (Wang et al., 2021).

2.3.1 Mecanismo de ação

Embora o exato mecanismo de ação ainda não esteja completamente elucidado, acredita-se que essas enzimas catalisam a hidrólise das ligações β -1,4-glicosídicas entre o ácido N-acetilmurâmico e a N-acetilglicosamina, produzindo o dipeptídeo muramil (MDP), um metabólito bioativo com potencial de ativar os receptores intracelulares NOD2 (proteína 2 contendo o domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos) nas células epiteliais intestinais. A ativação do NOD2 desencadeia uma cascata de sinalização que envolve vias como NF- κ B (Fator Nuclear kappa B) e MAPK (Proteína Quinase Ativada por Mitógenos), resultando na produção de citocinas anti-inflamatórias que promovem uma resposta imunológica regulada e a manutenção da homeostase intestinal (Wang et al., 2021; Girardin et al., 2003; Strober et al., 2006). A atividade enzimática da muramidase é expressa em LSU (Lysozyme Substrate Units), unidade que quantifica a capacidade da enzima de aumentar a fluorescência de peptidoglicano marcado, refletindo sua eficácia na degradação de componentes da parede celular bacteriana (Lichtenberg et al., 2017).

2.3.2 Impactos na digestibilidade de nutrientes e no desempenho zootécnico

Goodarzi Boroogeni et al. (2019) avaliaram a digestibilidade de nutrientes e a histologia intestinal de frangos de corte alimentados com e sem muramidase, e sugeriram que os PGNs podem prejudicar a digestão e a absorção de nutrientes. Enquanto a muramidase pode reduzir essa carga no lúmen, permitindo absorção eficaz dos nutrientes dietéticos. Dessa forma, a adição de muramidase microbiana às dietas de frangos de corte representa uma perspectiva interessante para melhorar a funcionalidade.

dade gastrointestinal. Além disso, a taxa de conversão alimentar pode melhorar aproximadamente 3%. Demonstrando efeito significativo na digestibilidade e eficiência alimentar dos animais.

Lichtenberg et al. (2017) avaliaram diferentes inclusões de muramidase em dietas de frangos de corte e não encontraram efeitos tóxicos, mesmo quando utilizando altas concentrações dietéticas (450.000 LSU/kg), além disso os autores obtiveram melhor desempenho com a adição da enzima. Wang et al. (2021) conduziram um experimento com inclusão de muramidase e ao analisarem os resultados concluíram que a enzima resultou em aumento na quantidade de células caliciformes no duodeno, bem como no número de linfócitos intraepiteliais em frangos de corte. Além deste, dois estudos realizados por Goes et al. (2022) para investigar o efeito da adição de muramidase microbiana em dietas para frangos de corte, analisando o desempenho zootécnico, permeabilidade intestinal, carotenoides no sangue, digestibilidade ileal aparente e a ocorrência de dermatite plantar, demonstraram que a suplementação de muramidase resultou em desempenho de crescimento superior, maior digestibilidade de nutrientes e uma melhoria na funcionalidade intestinal. Esses efeitos mostram que a enzima auxiliou as aves a se adaptarem ao desafio intestinal imposto, o que pode explicar a redução na incidência de pododermatite observada nos animais suplementados com a enzima.

2.4 B-MANANASE

As beta-mananases são enzimas comercialmente produzidas por fermentação submersa (FSm), geralmente a partir de microrganismos como leveduras, fungos e bactérias, sendo estas últimas preferidas devido ao seu custo reduzido, processo de produção ágil e facilidade de modificação. Essas enzimas desempenham um papel crucial na hidrólise dos β -mananos, visto que, ao degradar esses polissacarídeos, as β -mananases reduzem significativamente a retenção de água no intestino, diminuindo a viscosidade intestinal (Lee et al., 2003; Mehri et al., 2010). Esse efeito enzimático melhora a digestibilidade e a absorção de nutrientes, ao mesmo tempo em que evita a ativação do sistema imunológico inato contra os β -mananos, que, quando intactos, poderiam induzir uma resposta inflamatória desnecessária. Dessa forma, a ação da β -mananase ajuda a preservar a integridade da barreira intestinal e a eficiência na

absorção de nutrientes, otimizando o desempenho animal (Olmeda-Geniec et al., 2015; Hsiao et al., 2006; Poulsen et al., 2022; Sacakli et al., 2024).

2.4.1 Mecanismo de ação

A β -mananase é uma endocarbohidrase que cliva aleatoriamente as ligações 1,4-beta glicosídicas na cadeia principal de mananos, galactomananos, glucomananos e galactoglucomananos, resultando na produção de oligossacarídeos como manobiose, manotriose e manose. O modo de ação da β -mananase ocorre em duas etapas enzimáticas que envolvem reações de ataque nucleofílico e hidrolítico ao substrato β -manano. Na primeira etapa, ocorre um ataque nucleofílico ao carbono anomérico do substrato, ou seja, o carbono do açúcar que está ligado ao oxigênio glicosídico. Simultaneamente, esse oxigênio é protonado (ganha um próton), criando um intermediário enzimático instável, o que permite que a reação prossiga. Na segunda etapa, esse intermediário é desfeito por um ataque hidrolítico, ou seja, uma molécula de água reage com o complexo enzima-substrato, quebrando a ligação no carbono anomérico do grupo glicosil. Esse processo libera os produtos da reação, que são moléculas menores do substrato original, e restaura a configuração original da enzima e do carbono anomérico. Esse mecanismo cíclico permite que a β -mananase continue a atuar sobre novos substratos, promovendo a degradação dos β -mananos de forma eficiente (Cruz, da, 2016; Srivastava e Kapoor, 2017a).

Os produtos da reação, ao contrário de seus precursores, diminuem a viscosidade da dieta, facilitando a digestão e a absorção de nutrientes, e estão associados à diminuição da taxa de renovação da mucosa intestinal, o que contribui para melhorias na conversão alimentar. Além disso, esses oligossacarídeos não desencadeiam uma resposta imunológica desnecessária no hospedeiro, ao contrário de fragmentos maiores da parede celular, que podem ser reconhecidos como PAMPs (Duncan et al., 2002; (Sims et al., 2004; Sinovec et al., 2005; Olmeda-Geniec et al., 2015; Poulsen et al., 2022; Sacakli et al., 2024).

A atividade da β -mananase é medida em AMNU (Acidic Mannanase Novozymes Units), que avalia a capacidade da enzima de hidrolisar galactomanano, li-

berando carboidratos redutores que são detectados espectrofotometricamente (Lambré et al., 2022). A enzima líquida β -mananase foi diluída em água e misturada à ração após uma pré mistura para melhor homogeneização da enzima.

2.4.2 Impactos na digestibilidade de nutrientes e no desempenho zootécnico

Estudos conduzidos por Silva et al. (2022) demonstraram que a inclusão de 240 mg/kg de β -mananase em dietas de frangos de corte melhorou o rendimento de carcaça e a morfologia do trato gastrointestinal, sugerindo efeitos positivos no desempenho produtivo, tais resultados foram similares aos encontrados por Latham et al. (2018) ao investigarem os efeitos da β -mananase em diferentes concentrações de galactomanana, visto que, concluíram que a inclusão da enzima melhora o desempenho e a eficiência de utilização de nutrientes em frangos de corte. Mohammadigheisar et al. (2021) reforçaram esses achados ao observar melhorias na digestibilidade de aminoácidos essenciais com a suplementação de β -mananase. Por outro lado, Sornlake et al. (2013), em um ensaio de digestibilidade *in vitro*, observaram que a β -mananase aumentou a liberação de açúcares redutores, embora sem impacto significativo no consumo de ração, na taxa de conversão alimentar ou na utilização de energia.

Os resultados observados são corroborados pelo estudo de Kiarie et al. (2021), que revisou os efeitos da β -mananase em diferentes espécies, incluindo frangos de corte, evidenciando melhorias na utilização de energia e nutrientes. No entanto, a magnitude dessas respostas variou, indicando a necessidade de uma aplicação mais precisa da β -mananase para garantir resultados consistentes. De forma complementar, Pantoja et al. (2022) observaram que a inclusão de β -mananase melhora a funcionalidade intestinal. A β -mananase também tem se mostrado eficaz na modulação microbiana e na redução da severidade de infecções por patógenos como *Eimeria maxima* e *Clostridium perfringens*, patógenos que são conhecidos por impactarem negativamente o desempenho de frangos de corte (Maria, 2023).

Esses estudos indicam que a suplementação com β -mananase em dietas de frangos de corte pode melhorar significativamente a eficiência alimentar e a funcionalidade intestinal das aves. A ação da β -mananase, ao reduzir a viscosidade da dieta e promover a modulação da microbiota intestinal, contribui para uma melhor digestibili-

dade dos nutrientes e para a integridade do epitélio intestinal. Além disso, os benefícios observados, como o controle da resposta imunológica e a redução da severidade de infecções por patógenos, reforçam o potencial dessa enzima como uma alternativa eficaz aos promotores de crescimento convencionais (Sims et al., 2004).

No entanto, para maximizar a eficácia da β -mananase, é essencial uma compreensão aprofundada dos seus mecanismos de ação e das interações com outros componentes dietéticos. Isso permitirá otimizar as formulações dietéticas e garantir que os benefícios observados em termos de saúde e desempenho das aves sejam consistentes e replicáveis em diferentes condições de produção. A exploração contínua e a compreensão detalhada dos efeitos da β -mananase são fundamentais para alinhar a produção avícola com as crescentes demandas por práticas de manejo mais sustentáveis, proporcionando produtos de origem animal que atendam às expectativas de qualidade e segurança do mercado consumidor.

2.5 ENZIMA E MITIGAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL

A Resolução CONAMA 01/1986 caracteriza impacto ambiental como qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do ambiente, resultante das atividades humanas, que comprometa a saúde, segurança e bem-estar da população, além de interferir na qualidade dos recursos naturais. No contexto da avicultura, os principais desafios ambientais estão relacionados ao manejo de resíduos, especialmente pela presença de compostos como nitrogênio e fósforo, que possuem elevado potencial poluidor (Oviedo-Rondón, 2008; Verstegen & Jongbloed, 2003).

O nitrogênio, quando presente na forma de nitrato, é altamente móvel no solo, podendo ser lixiviado para lençóis freáticos em concentrações superiores a 10 mg/L, representando um risco à saúde humana e animal. A contaminação por nitratos é uma preocupação global, frequentemente associada ao manejo incorreto de resíduos (Maguire et al., 2005). Já o fósforo é um agente-chave na eutrofização dos corpos d'água, favorecendo a proliferação de algas e resultando na diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido, o que compromete a fauna aquática (Coelho & Kornegay, 1996). A cama de aviário, utilizada para absorção de dejetos e bem-estar animal, também pode ter implicações ambientais. As características físico-químicas, como pH, temperatura (20-

30°C) e umidade, criam condições ideais para a proliferação de microrganismos potencialmente patogênicos (Misselbrook et al., 2000). Em particular, a conversão do íon amônio em amônia em condições de pH elevado e alta umidade resulta na emissão desse gás tóxico, que é prejudicial tanto à saúde animal quanto humana, além de contribuir para a formação de partículas finas (Patterson & Adrizal, 2005).

Para mitigar esses impactos, a suplementação de dietas com enzimas exógenas, como β -mananase e muramidase, surge como uma abordagem promissora. A inclusão de β -mananase em rações pode reduzir o impacto ambiental da produção avícola, diminuindo as emissões de gases de efeito estufa em até 5,6% e o impacto da eutrofização em 1,1% (Hickmann et al., 2021). Além disso, a muramidase ao promover a degradação de componentes provenientes da parede celular bacteriana, aumenta a digestibilidade e a absorção de nutrientes, o que pode resultar em menor quantidade de excretas no ambiente (Wang et al., 2021)

Essas estratégias não apenas contribuem para a melhoria da eficiência alimentar dos frangos de corte, mas também são fundamentais para alinhar a produção avícola às práticas mais sustentáveis, respondendo às exigências por uma agricultura mais ética e com menor impacto ambiental (Zhongchao & Zhang, 2004).

1.1

2.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo contribui para a compreensão dos efeitos das enzimas β -mananase e muramidase na funcionalidade intestinal, desempenho zootécnico e qualidade da cama de frangos de corte. A aplicação isolada ou combinada dessas enzimas demonstrou potencial para mitigar os efeitos negativos de PNAs e PGNs. Por ser o primeiro estudo, relatado na literatura até o momento, a avaliar o uso conjunto dessas enzimas, este trabalho oferece uma base promissora para o desenvolvimento de estratégias mais sustentáveis e eficientes na avicultura. Estudos futuros poderão explorar diferentes níveis de inclusão e diferentes condições de aplicação, buscando ampliar a aplicabilidade e o impacto positivo dessas enzimas na produção animal.

REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O.; COWIESON, A.J. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v.89, p.3189-3218, 2011.
- ALCORLO, Martín; MARTÍNEZ-CABALLERO, Siseth; MOLINA, Rafael; HERMOSO, Juan A. Carbohydrate recognition and lysis by bacterial peptidoglycan hydrolases. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 44, p. 87-100, jun. 2017.
- AMAN, P.; GRAHAM, H. Chemical evaluation of polysaccharides in animal feeds. In: WISEMAN, J.; COLE, D. J. A (ed.). **Feedstuff evaluation**. University Press, Cambridge, UK. p. 161–177. 1990.
- AWAD, W.A.; HESS, C.; HESS, M. Enteric pathogens and their toxin-induced disruption of the intestinal barrier through alteration of tight junctions in chickens. **Toxins** (Basel). 2017.
- BARROS, V.R.S.M. et al. Beta-mannanase and mannan oligosaccharides in broiler chicken food. **Ciência Rural**, v.45, n.1, 2015.
- BERTECHINI, A.G.; BRITO, J.A.G. Utilização correta das enzimas em rações de aves. In: FÓRUM INTERNACIONAL DE AVICULTURA, 2., 2007, Curitiba. Anais... Curitiba: **Animal World**, 2007.
- BERTECHINI, A.G. Nutrição de monogástricos. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006.
- BROOM, Leon J.; KOGUT, Michael H. The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 204, p. 44-51, out. 2018.
- CAPALDO CT, NUSRAT A. Cytokine regulation of tight junctions. **Biochim Biophys Acta**. 2009.
- CELI, Pietro. et al. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 234, p. 88-100, set. 2017.
- CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, p.13-26, 1997.
- CHOCT, M. Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals. In: Bedford, M.R.; Partridge, G.G. (Eds.) **Enzymes in farm animal nutrition**. **CABI Publishing**, p. 406, 2001
- COELHO, M.B.; KORNEGAY, E.T. Phytase in animal nutrition and waste management. **BASF**, 728 p., 1996.

Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA nº 001, de 23 de janeiro de 1986. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 fev. 1986.

CONTE A.J., TEIXEIRA A.S., FIALHO E.T., SCHOULTEN N.A. & BERTECHINI A.G. Efeito da Fitase e Xilanase sobre o Desempenho e as Características Ósseas de Frangos de Corte Alimentados com Dietas Contendo Farelo de Arroz. **Rev. Bras. Zootec.** 2003.

CRUZ, A. F. DA. Mannan-degrading enzyme system. **Fungal Enzymes**, n. July 2013, p. 233– 257, 2016.

DHAWAN, S.; KAUR, J. Microbial mannanases: an overview of production and applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.27, p.197-216, 2007.

DRAMSI, S; DAVISON, S; MAGNET, S; ARTHUR, M. Surface proteins covalently attached to peptidoglycan: examples from both gram-positive and gram-negative bacteria. **FEMS Microbiol Rev.** 2008.

DUARTE, E. R.. Microbiologia Básica para Ciências Agrárias. Montes Claros: **Instituto de Ciências Agrárias da UFMG**. 129 p. (Bacia do Conhecimento Agrário, 1). 2011.

Duncan, C. J. et al. Isolation of a galactomannan that enhances macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 20, p. 5683-5685, 2002.

FIGUEIRA, Samantha Verdi. et al. Microbiota intestinal das aves de produção. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 10, n. 18, p. 1-7, jul. 2014.

GAJDA E, BUGLA-PŁOSKOŃSKA G. Lizozym--występowanie w przyrodzie, właściwości biologiczne i możliwości zastosowań [Lisozima ocorrência na natureza, propriedades biológicas e possíveis aplicações]. 2014.

GIRARDIN SE, TRAVASSOS LH, HERVÉ M, BLANOT D, BONECA IG, PHILPOTT DJ, SANSONETTI PJ, MENGIN-LECREULX D. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by Nod1 and Nod2. **Journal of Biological Chemistry**. 2003.

GOES, E.C. et al. Effects of a microbial muramidase on the growth performance, intestinal permeability, nutrient digestibility, and welfare of broiler chickens. **Poultry Science**, v.101, n.12, p.102232, 2022.

GOODARZI BOROOJENI, F. et al. Evaluation of a microbial muramidase supplementation on growth performance, apparent ileal digestibility, and intestinal histology of broiler chickens. **Poultry Science Association**, v.98, p.2080–2086, 2019.

GUENTER, W. Practical experience with the use of enzymes. Winnipeg: Department of Animal Science, University of Manitoba, 1997.

HICKMANN, F.M.W. et al. β -Mannanase supplementation as an eco-friendly feed strategy to reduce the environmental impacts of pig and poultry feeding programs. **Frontiers in Veterinary Science**, v.8, p.732253, 2021.

HORCAJO, P.; DE PEDRO, M. A.; CAVA, F. Peptidoglycan plasticity in bacteria: stress-induced peptidoglycan editing by noncanonical D-amino acids. *Microbial Drug Resistance*, v. 18, n. 3, p. 240-245, 2012.

HSIAO, H. Y; ANDERSON, D. M.; DALE, N.M. Levels of β -mannan in soybean meal. **Poultry Science Association**, v. 85, p. 1430-1432, 2006.
1.2

1.3 HUMANN J & LENZ LL. BACTERIAL PEPTIDOGLYCAN DEGRADING ENZYMES AND THEIR IMPACT ON HOST MUROPEPTIDE DETECTION. **Journal of Innate Immunity** 1, 88–97. 2009.

Jackson, M. E. Mannanase, alpha-galactosidase, and pectinase. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Ed.). *Enzymes in farm animal nutrition*. Wallingford: **CABI Publishing**, 2001.

JHA, R.; OVEREND, D.N.; SIMMINS, P.H.; HICKLING, D.; ZIJLSTRA, R.T. Chemical characteristics, feed processing quality, growth performance and energy digestibility among wheat classes in pelleted diets fed to weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.170, p.78-90, 2011.

KIARIE, E.G. et al. Significance of single β -mannanase supplementation on performance and energy utilization in broiler chickens, laying hens, turkeys, sows, and nursery-finish pigs: a meta-analysis and systematic review. **Translational Animal Science**, v.5, n.4, txab160, 2021.

KLASING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v. 77, n. 8, p. 1119-1125, ago. 1998.

KONG, C.; LEE, J. H.; ADEOLA, O. Supplementation of beta-mannanase to starter and grower diets for broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 91, p. 389-397, 2011.

LATHAM, R.E. et al. Efficacy of β -mannanase on broiler growth performance and energy utilization in the presence of increasing dietary galactomannan. **Poultry Science**, v.97, n.2, p.549-556, 2018.

LEE, W.J.; HASE, K. Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. **Nature Chemical Biology**. 2014.

LICHTENBERG, J. et al. Safety evaluation of a novel muramidase for feed application. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 89, p. 57-69, out. 2017.

- LIMA G.J.M.M. & VIOLA E.S. Ingredientes energéticos: trigo e tritcale na alimentação animal. In: Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal. Campinas CBNA p.33-61. 2001.
- MAGUIRE R.O.; DOU, Z.; SIMS, J.T.; BRAKE, J.; JOERN, B.C. Dietary strategies for reduced phosphorus excretion and improved water quality. **Journal of Environmental**. 2005.
- MARIA, L. P. Efeito do uso de probiótico, β -mananase e antibiótico sobre o desempenho e saúde intestinal de frangos de corte desafiados por *Eimeria maxima* e *Clostridium perfringens* - 2023, 85f - Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2024.
- MISSELBROOK, T. H. et al. Ammonia emission factors for UK agriculture. **Atmospheric Environment**, v. 34, n. 6, p. 871-880, Jan. 2000.
- MOHAMMADIGHEISAR, M. et al. Effect of dietary supplementation of β -mannanase on growth performance, carcass characteristics, excreta microflora, blood constituents, and nutrient ileal digestibility in broiler chickens. **Animal Bioscience**, v.34, n.8, p.1342-1349, 2021.
- MORGAN, N. K. Managing gut health without reliance on antimicrobials in poultry. **Animal Production Science**, 57(11), 2270-2279. 2017.
- NEUHAUS, FC; BADDILEY, J. A continuum of anionic charge: structures and functions of d-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. 67: 686–723. 2003.
- NELSON, L. D.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. São Paulo: Câmara brasileira do livro, 3ª ed., p. 189, 2002.
- OLIVEIRA, M. C.; MORAES, V. M. B. Mananoligossacarídeos e enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja para aves. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.8, n.3, p.339-357, 2007.
- OPALINSKI, M. et al. Adição de níveis crescentes de complexo enzimático em rações com soja integral desativada para frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.3, p.31-35, 2006.
- OLMEDA-GENIEC, N.; ALEMI, F.; KLASING, K. Effect of Hemicell HT enzyme on the immune system of chickens and their performance. South. **Poultry Science** - Socit. Meet., 2015.
- OVIEDO-RONDÓN, Edgar O. Technologies to mitigate the environmental impact of broiler production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, spe., p. 239-252, jul. 2008.
- PATTERSON, P.H.; ADRIZAL. Management strategies to reduce air emissions: emphasis-dust and ammonia. **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.638-650, 2005.

PANTOJA-DON JUAN, C.A. et al. Productive performance and cecum microbiota analysis of broiler chickens supplemented with β -mannanases and bacteriophages – A pilot study. **Animals**, v.12, n.2, p.169, 2022.

PHILLIPS, David C. The three-dimensional structure of an enzyme molecule. *Health*, 1 nov. 1966.

QUADROS, V. R. Desempenho de matrizes de corte suplementadas com β mananase. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 62. 2019.

RAVINDRAN, V. et al. Influence of exogenous enzyme combinations on energy utilization and nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**, v.87, n.1, p.113-122, 2008.

ROGERS, HJ; PERKINS, HR; WARD, JB. Paredes e membranas celulares microbianas. **Chapman e Hall**, Londres. 1980.

SILVA, V.C. et al. Características de carcaças e vísceras de fragos de corte alimentados com dietas com enzimas beta mananase e soja integral desativada. **Ciência Animal**, v. 32, n. 4, p. 49-59, 2022.

SIMS, M.D. et al. Effects of dietary mannan oligosaccharide, bacitracin methylene disalicylate, or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys. **Poultry Science Association**, v. 83, p. 1148-1154, 2004.

SMITS, C. H. M., & ANNISON, G. (1996). Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition – towards a physiologically valid approach to their determination. **World's Poultry Science Journal**, 52(2), 203–221.

SINOVEC, Z; MARKOVIC, R; GLEDIC; D. Influence of Bio-Mos on broilers performances and gut morphology; Proceedings of the 15th European Symposium on Poultry Nutrition; Balatonfüred, Hungary. 25–29. 2005.

SORNLAKE, W. et al. β -Mannanase production by *Aspergillus niger* BCC4525 and its efficacy on broiler performance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 13, p. 3345-3351, 2013.

STROBER W, MURRAY PJ, KITANI A, et al. (2006) Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. **Nature Reviews Immunology** 6, 9–20. 2006.

SRIVASTAVA, P. K, KAPOOR, M. Recombinant GH-26 endo-mannanase from *Bacillus* sp. CFR1601: Biochemical characterization and application in preparation of partially hydrolysed guar gum. **LWT – Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 809–816, 2015.

TAVERNARI, F. C.; CARVALHO, T. A.; ASSIS, A. P.; LIMA, H. J. A. Polissacarídeos não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v.5, n.5, p. 673-689, 2008.

VAN DER KLIS JD, VERSTEGEN MW, VAN VOORST A. Efeito de um polissacarídeo solúvel (carboximetilcelulose) na absorção de minerais do trato gastrointestinal de frangos de corte. **British Poultry Science**. 1993.

VERSTEGEN, M.W.A, JONGBLOED, A.W. Crystalline amino acids and nitrogen emission. Amino acids in animal nutrition. J. P. F. D'Mello, ed. **CABI International**. London, UK., 2003.

WANG, Y., et al. Dietary muramidase degrades bacterial peptidoglycan to NOD-activating muramyl dipeptides and reduces duodenal inflammation in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 126, n. 5, p. 641-651, 2021.

YEOMAN, C. J., CHIA, N., JERALDO, P., SIPOS, M., GOLDENFELD, N. D., & WHITE, B. A. The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. **Animal Health Research Reviews**, 13(1), 89-99. 2012.

ZANELLA, I.; SAKOMURA, N.K.; SILVERSIDES, F.G.; FIQUEIRDO, A.; PACK, M. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, v.78, p.561-568, 1999.

ZHANG, L.; TIZARD, I. R. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. **Immunopharmacology**, v. 35, n. 2, p. 119-128, 1996.

ZHONGCHAO, T.; ZHANG, Y. A review of effects and control methods of particulate matter in animal indoor environments. **Air and Waste Management Association** v.54, p.845-854, 2004

CAPÍTULO II

EFEITO DAS ENZIMAS B-MANANASE E MURAMIDASE NA DIGESTIBILIDADE DAS DIETAS E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Polissacarídeos não amiláceos presentes nas paredes celulares dos componentes da dieta e peptidoglicanos das bactérias inativas podem comprometer a funcionalidade intestinal dos frangos de corte de forma a afetar o desempenho dos animais. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da adição das enzimas β -mananase e muramidase, de modo isolado ou combinado, na dieta de frangos de corte sobre o desempenho produtivo, digestibilidade de nutrientes e parâmetros relacionados à qualidade de cama no período de 1 a 42 dias de idade. 900 frangos de corte da linhagem Ross 308 foram distribuídos em 4 tratamentos: controle, β -mananase (500 AMNU/kg de ração), muramidase (35.000 LSU/kg de ração) e a combinação de ambas, β -mananase (250 AMNU/kg de ração) e muramidase (35.000 LSU/kg de ração). As dietas dos grupos suplementados com enzimas foram formuladas com redução de 100 kcal em relação à dieta controle. O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado, com 9 repetições de 25 aves por unidade experimental. Aos 41 dias, 3 aves foram eutanasiadas para coleta de conteúdo ileal para determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CDIA) de matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e energia digestível ileal (IDE). Além disso, foram avaliados os parâmetros de desempenho, incluindo consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar aos 7, 21, 35 e 41 dias de idade, bem como o rendimento de carcaça e cortes aos 42 dias de idade das aves. Foram realizadas medidas dos parâmetros relacionados à qualidade da cama, incluindo o pH aos 18 e 39 dias, temperatura e as concentrações de nitrogênio e fósforo aos 39 dias, além do coeficiente de resíduo no dia 41. Os animais alimentados com dietas contendo muramidase apresentaram maior digestibilidade da matéria orgânica e da energia ($P < 0,001$). No período de 0 a 21 dias, as aves alimentadas com a dieta controle apresentaram maior consumo em comparação àquelas que receberam o tratamento combinado de β -mananase + muramidase ($P = 0,047$). O ganho de peso foi superior nos animais que consumiram a dieta controle ($P = 0,002$). A conversão alimentar foi melhor nos animais que consumiram a dieta controle e a dieta

contendo muramidase isolada, enquanto aqueles alimentados com β -mananase isolada apresentaram pior conversão alimentar ($P=0,044$). Em relação à composição corporal, as aves tratadas com muramidase isolada tiveram menor porcentagem de gordura na carcaça ($P=0,045$). A inclusão de β -mananase e muramidase de forma isolada na dieta resultou em redução do pH da cama aos 39 dias de idade ($P=0,001$). A muramidase melhora a conversão alimentar, reduz a gordura corporal e eleva a digestibilidade da matéria orgânica e energia. O uso das enzimas mantém o desempenho zootécnico nas fases inicial e final, assim como o rendimento de carcaça e cortes em níveis comparáveis aos da dieta controle.

Palavras-chave: Aditivos. Avicultura. Eficiência. Sustentabilidade.

1. INTRODUÇÃO

A indústria avícola tem direcionado seus esforços para otimizar a eficiência produtiva, enquanto busca integrar práticas sustentáveis alinhadas às demandas do mercado consumidor. A utilização de enzimas na nutrição animal normalmente apresenta benefícios além dos possíveis resultados associados a melhora nos índices zootécnicos (Moura et al., 2019). Ao melhorar o aproveitamento dos nutrientes presentes nos alimentos, pode contribuir de forma efetiva para aumentar a eficiência produtiva dos animais e reduzir o impacto ambiental ao diminuir a excreção de nutrientes potencialmente poluentes para o ambiente, em particular nitrogênio e fósforo (Machado et al., 2010).

A β -mananase é uma enzima exógena que hidrolisa β -mananos, polissacarídeos não amiláceos solúveis compostos por unidades repetidas de β -1-4 manose, 1-6 galactose e glicose associada a uma estrutura de β -mananos, presentes nas paredes celulares de plantas como a soja, amplamente utilizada na dieta de frangos de corte. Esses animais carecem de enzimas endógenas capazes de degradar esses compostos, o que leva a perdas de energia e proteínas, visto que esses carboidratos complexos se ligam às proteínas das paredes celulares das plantas. Além disso, devido à presença de manose, principal açúcar presente nos β -mananos, na superfície de microrganismos patogênicos, como fungos, bactérias e vírus, sua ingestão pode induzir um falso sinal sobre a presença de patógenos, ativando uma resposta imune desnecessária. A hidrólise dos β -mananos pela β -mananase gera frações menores que, além de potencialmente fornecer energia adicional e evitar a liberação de citocinas pró inflamatórias, ainda diminui a viscosidade do conteúdo intestinal, melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Lee et al., 2003; Hsiao et al., 2006; Mehri et al., 2010; Kong et al., 2011; Mussini et al., 2011; Poulsen et al., 2022; Sacakli et al., 2024).

A muramidase é uma enzima produzida por diversos organismos que catalisa a degradação de peptidoglicanos, fragmentos bacterianos não vivos, resultando na formação de muramil dipeptídeo (MDP), um metabólito bioativo com potencial de ativar os receptores intracelulares NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2) nas células epiteliais intestinais, essa ativação desencadeia uma cascata de sinalização que resulta na produção de citocinas anti-inflamatórias que promovem uma resposta imunológica regulada e a manutenção da homeostase intestinal. Embora o mecanismo exato ainda não seja compreendido, essas ações podem

melhorar a digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho dos frangos de corte ao minimizar a interferência dos peptidoglicanos na absorção de nutrientes (Girardin et al., 2003; Strober et al., 2006; Wang et al., 2021; Goes et al., 2022).

Até o momento, não foram encontrados estudos na literatura que investiguem o potencial da β -mananase e da muramidase quando adicionadas de forma conjunta na dieta de frangos de corte. Posto isso, a hipótese deste estudo é que a inclusão de β -mananase e muramidase, isoladas ou em combinação, na dieta de frangos de corte melhore o desempenho zootécnico e a digestibilidade dos nutrientes, além de contribuir para a melhoria dos parâmetros de qualidade da cama.

O presente estudo visou avaliar os efeitos individuais da β -mananase e da muramidase na dieta de frangos de corte, bem como investigar quais os efeitos dessas enzimas quando combinadas sobre o desempenho zootécnico, rendimento de carcaça, digestibilidade de nutrientes e parâmetros de qualidade de cama.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Curitiba (PR), sob o protocolo número 006/2023.

2.1.1 Animais e local dos experimentos

Foram utilizados 900 frangos de corte machos (Ross 308 AP95/TM4; BRF S.A, Castro, PR, Brazil) previamente vacinados contra a doença de Marek, de 1 a 42 dias de idade, alojados em galpão de pressão negativa, em boxes experimentais de 1,65 m de comprimento e 1,25 m de largura, contendo cama de maravalha de pinus nova com espessura de 8 cm equipados com comedouro tubular e bebedouro tipo nipple. O aquecimento foi realizado por meio de forno automático (pelete) e foram utilizados termômetros para verificar a temperatura máxima e mínima em diferentes pontos do galpão.

Durante o período experimental os animais receberam água e ração ad libitum e o controle de iluminação seguiu a recomendação do manual da linhagem, assim como a temperatura ambiente e controle de ventilação, realizada por meio de exaustores. A temperatura do galpão e a mortalidade das aves foram verificadas diariamente.

2.2 DELINEAMENTOS E DIETAS EXPERIMENTAIS

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 9 repetições com 25 animais cada. As dietas, feitas a base de milho e farelo de soja (Tabela 1), foram fornecidas na forma farelada. A adição das enzimas foi realizada durante a pré mistura dos microingredientes. A atividade enzimática da muramidase é expressa em LSU (Unidades de substrato de lisozima), unidade que quantifica a capacidade da enzima de aumentar a fluorescência de peptidoglicano marcado, refletindo sua eficácia na degradação de componentes da parede celular bacteriana. Já a atividade da β -mananase é medida em AMNU (Acidic Mannanase Novozymes Units), que avalia a capacidade da enzima de hidrolisar galactomanano, liberando carboidratos redutores que são detectados espectrofotometricamente (Lambré et al., 2022). A enzima líquida β -mananase foi diluída em água e misturada à ração após uma pré mistura para melhor homogeneização da enzima.

Os tratamentos consistiram em: controle; β -mananase, com adição 500 AMNU da enzima por quilograma de ração; muramidase, com adição 35.000 LSU da enzima por quilograma da ração; e a combinação das duas (MAN+MUR), com a inclusão 250 AMNU de β -mananase e 35.000 LSU de muramidase por quilo de ração. As doses enzimáticas foram determinadas com base nas recomendações do fabricante, e todas as dietas suplementadas com enzimas apresentaram uma redução de 100 kcal em relação à dieta controle.

Tabela 1. Ingredientes e composição química na matéria natural das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Pré-Inicial		Inicial		Crescimento		Final	
	Sem enzima	Com ¹ enzima	Sem enzima	Com ¹ enzima	Sem Enzima	Com ¹ enzima	Sem enzima	Com ¹ enzima
Milho	57,09	56,73	60,95	60,84	65,59	65,64	68,78	68,83
Farelo de soja	37,90	37,90	34,30	34,30	29,50	29,50	26,30	26,30
Óleo de soja	1,45	0,46	1,57	0,48	2,10	0,95	2,40	1,25
Fosfato bicálcico	0,98	0,98	0,75	0,75	0,56	0,56	0,47	0,47
Calcário	1,10	1,10	1,05	1,05	0,84	0,84	0,82	0,82
Sal comum	0,26	0,26	0,25	0,25	0,28	0,28	0,27	0,27
Bicarbonato sódico	0,15	0,15	0,13	0,13	0,11	0,11	0,10	0,10
DL-metionina	0,37	0,37	0,32	0,32	0,30	0,30	0,24	0,24
Lisina HCl 99%	0,23	0,23	0,21	0,21	0,24	0,24	0,19	0,19
Treonina 99%	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,07	0,07
Valina 99%	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00
Fitase ²	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Celite ³	0,00	1,35	0,00	1,20	0,00	1,10	0,00	1,10
Premix vit-min ⁴	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Total	100	100	100	100	100	100	100	100
Composição química calculada (%)								
EM (Kcal/kg)	2.990	2.890	3.040	2.940	3.130	3.030	3.180	3.080
Proteína Bruta	22,60	22,60	21,20	21,20	19,34	19,34	18,00	18,00
Lisina dig.	1,30	1,30	1,20	1,20	1,10	1,10	0,98	0,98
Metionina dig.	0,66	0,66	0,60	0,60	0,56	0,56	0,49	0,49
Treonina dig.	0,85	0,85	0,79	0,79	0,74	0,74	0,66	0,66
Triptofano dig.	0,25	0,25	0,23	0,23	0,20	0,20	0,19	0,19
Cálcio	0,99	0,99	0,90	0,90	0,76	0,76	0,72	0,72
Fósforo disponível	0,50	0,50	0,45	0,45	0,40	0,40	0,38	0,38
Sódio	0,20	0,20	0,19	0,19	0,19	0,19	0,18	0,18

¹500 AMNU/kg de β -mananase; 35.000 LSU/kg de muramidase; 250 AMNU/kg de β -mananase + 35.000 LSU/kg de muramidase

²RONOZYME® HiPhos (GT)

³Celite® 400: Marcador insolúvel (Celite, Celite Corp., Lompoc, CA)

⁴Premix vitamínico e mineral: Vitamina A, 10.800 IU; vitamina D3, 3.000 IU; vitamina E, 240 IU; vitamina K3, 3,0 mg; vitamina B1, 1,8 mg; vitamina B2, 7,2 mg; vitamina B6, 3,6 mg; vitamina B12, 14,4 mcg; ácido pantotênico, 14,4 mg; niacina, 30 mg; ácido fólico, 0,96 mg; biotina, 0,07 mg; selênio 0,30 mg, Cu, 10 mg; Fe, 50 mg; Mn, 80 mg; Co, 1,0 mg; I, 1,0 mg; Zn, 50 mg.

2.3 VARIÁVEIS ANALISADAS

2.3.1 Desempenho zootécnico

Os animais foram pesados no momento do alojamento e aos 7, 21, 35 e 41 dias de idade para avaliar ganho de peso. Além disso, para determinar o consumo e a conversão alimentar a ração fornecida e as sobras foram pesadas. Aos 42 dias de idade, duas aves por repetição com peso vivo semelhante à média da repetição \pm 5% foram eutanasiadas para realização do rendimento de carcaça, peito, coxa + sobrecoxa e porcentagem de gordura abdominal. Após a realização do processo de abate,

remoção das penas, cabeça e vísceras, assim como a separação da gordura, as carcaças foram lavadas e resfriadas em Chiller durante 60 minutos a 2°C. Após a drenagem completa da água das carcaças, estas foram pesadas e os cortes específicos foram realizados (peito com pele e osso, coxa + sobrecoxa) e, com a gordura abdominal, foram pesados. Pela relação entre o peso vivo de cada ave e o peso de sua carcaça, foi determinado o rendimento de carcaça, e pela relação entre o peso da carcaça e os cortes foram determinados os rendimentos de peito, coxas + sobrecoxas e porcentagem de gordura abdominal.

2.3.2 Digestibilidade ileal

Aos 41 dias de idade três aves por repetição foram eutanasiadas para coleta do conteúdo ileal. A porção do íleo para coleta da digesta ileal foi definida em 4 cm do divertículo da gema e 4 cm da junção íleo-cecolica. Após a coleta, o material foi acondicionado em recipientes plásticos estéreis e previamente identificados e, em seguida, congelado a -18°C. Posteriormente, as amostras de conteúdo ileal foram liofilizadas (Christ Alpha 1-4 LD plus, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Alemanha) até uma pressão de vácuo de 7×10^{-2} mbar e, assim como as dietas experimentais, foram moídas a 1 mm e analisadas para determinação dos teores de matéria seca (MS) em estufa a 105 °C, matéria mineral (MM, método 942.05), proteína (PB, método 954.01), extrato etéreo (EE, método 920.39) de acordo com a Association of the Official Analytical Chemists (AOAC, 1995) e determinação de energia bruta (EB) mensurada com bomba calorimétrica (IKA C2000 Basic, IKA-Werke, Staufen, Germany). A matéria orgânica (MO) foi calculada utilizando a fórmula: $MO (\%) = 100 - \text{Matéria Mineral} (\%)$.

A cinza insolúvel em ácido (CIA) foi utilizado como marcador indigestível e analisado pelo método descrito por Van Keulen e Young (1977). A razão entre CIA da dieta e CIA do conteúdo ileal foi utilizada com o fator de indigestibilidade (FI) para os cálculos de digestibilidade de nutrientes. Com base nos resultados laboratoriais, foram calculados os coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CDIA) da MO, PB, EE e energia de acordo com a equação: $CDIA = (\text{Fração do nutriente da Dieta} - (\text{Fração do nutriente no conteúdo ileal} * FI) / (\text{Fração na dieta}) * 100$.

2.3.3 Qualidade de cama

No início do experimento cada unidade experimental (box) foi forrada com lona de polietileno (com espessura de 150 micras) previamente pesada, a qual revestiu completamente o interior do compartimento, junto a maravalha nova.

Para determinação da qualidade da cama foram realizadas pesagens de todo volume de maravalha de cada box no início e no final do período experimental (41 dias), sendo coletadas amostras representativas para análises dos teores de MS, nitrogênio (N) e fósforo (P) segundo Bataglia et al. (1983). No dia 41 do experimento todo conteúdo presente no box foi pesado para obter a quantidade real de cama e resíduos produzidos no decorrer do período experimental. O coeficiente de resíduo (Cr) foi obtido por meio da relação entre a quantidade de cama gerada (C) e o peso vivo dos frangos produzidos no sistema ($Cr = \text{kg de cama de frango (C)}/\text{kg de peso vivo das aves}$), conforme adaptado de Risser (1985) e Strehler e Sutzle (1987).

Aos dias 18 e 39 de idade das aves, foram realizadas medições de pH em cinco pontos de amostragem selecionados em cada box para garantir representatividade da cama, evitando-se as áreas próximas e embaixo do comedouro e do bebedouro. As amostras coletadas foram homogeneizadas e uma porção de 15g de cada foram diluídas em 125ml de água deionizada em um béquer com capacidade para 300ml. Após 5 minutos de agitação que precedeu um período de repouso de 30 minutos, o pH foi mensurado utilizando um pHmetro de bancada (mPA-210, MS Tecnoyon Equipamentos Especiais LTDA, Piracicaba, SP, Brasil), conforme metodologia adaptada de Oliveira (2003). A temperatura da cama foi aferida com termômetro laser digital (GM320, W03030) aos 39 dias de experimento a uma altura de 15 cm da superfície da cama, no centro do box.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste Anderson-Darling de normalidade dos dados e à posterior análise de variância (ANOVA) utilizando o procedi-

mento General Linear Model (GLM) do programa estatístico Minitab Statistical Software 18 e quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3. RESULTADOS

Os tratamentos não diferiram significativamente para o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta ($P=0,188$; Tabela 2). No entanto, os animais alimentados com dietas contendo muramidase apresentaram maiores coeficientes de digestibilidade da matéria orgânica e da energia ($P<0,001$). O tratamento com β -mananase superou a combinação das duas enzimas em termos de digestibilidade da matéria orgânica, enquanto os tratamentos com β -mananase e a combinação apresentaram resultados equivalentes para a digestibilidade de energia. O grupo controle exibiu os menores coeficientes para ambos os parâmetros.

Tabela 2. Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, sobre os coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CDIA) da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e energia de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

CDIA	MO	PB	Energia
Controle	70,23d	79,67	67,44c
β -Mananase ¹	76,19b	80,39	73,06b
Muramidase ²	80,57a	80,73	77,09a
Man+Mur ³	75,29c	80,86	72,66b
EPM	0,636	0,212	0,593
P-valor	<0,001	0,188	<0,001

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem entre si (Tukey, $p \leq 0,05$).

¹ 500 AMNU/kg de β -mananase

² 35.000 LSU/kg de muramidase

³ 250 AMNU/kg de β -mananase + 35.000 LSU/kg de muramidase

Não houve efeito dos tratamentos sobre as variáveis ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar nos frangos de corte no período de 0 a 7 e de 0 a 42 dias de idade ($P>0,05$, Tabela 3). Contudo, no período de 0 a 21 dias, as aves alimentadas com a dieta controle apresentaram maior consumo comparado ao tratamento combinado de β -mananase + muramidase ($P<0,05$). O grupo que ingeriu a dieta controle apresentou o maior ganho de peso, enquanto os grupos tratados com β -mananase e com as enzimas combinadas tiveram menores ganhos. A conversão alimentar foi melhor para o grupo que ingeriu a dieta controle e o grupo que consumiu a dieta

contendo muramidase, enquanto aqueles que ingeriram a dieta contendo β -mananase isolada apresentaram piora na conversão alimentar.

Tabela 3. Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, no desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos	0-7 DIAS			0-21 DIAS			0-42 DIAS		
	CR	GP	CA	CR	GP	CA	CR	GP	CA
Controle	146	116	1,261	1207a	924a	1,305b	4987	3216	1,551
β -Mananase ¹	150	115	1,307	1190ab	888b	1,340a	4996	3196	1,563
Muramidase ²	142	117	1,213	1189ab	911ab	1,305b	5006	3249	1,542
Man+Mur ³	144	113	1,279	1179b	896b	1,328ab	5022	3256	1,544
EPM	1,310	0,840	0,015	3,560	3,840	0,005	18,500	19,000	0,006
P-valor	0,176	0,338	0,146	0,047	0,002	0,044	0,926	0,675	0,559

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem entre si (Tukey, $p \leq 0,05$).

GP: Ganho de peso (g)

CR: Consumo de ração (g)

CA: Conversão alimentar (g)

¹ 500 AMNU/kg de β -mananase

² 35.000 LSU/kg de muramidase

³ 250 AMNU/kg de β -mananase + 35.000 LSU/kg de muramidase

A suplementação de enzimas não afetou significativamente o rendimento de carcaça, peito e coxa/sobrecoxa ($P > 0,05$), ou seja, inclusão de β -mananase e muramidase, isoladas ou combinadas, foi eficaz em compensar a diferença de 100 kcal a menos, mantendo o desempenho no rendimento de carcaça, peito e coxa/sobrecoxa semelhante ao controle. No entanto, aves alimentadas com a dieta controle e com a dieta contendo as enzimas combinadas apresentaram maior porcentagem de gordura, enquanto aquelas alimentadas com muramidase de forma isolada apresentaram menor porcentagem de gordura na carcaça ($P = 0,045$, Tabela 4).

Tabela 4. Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, no rendimento de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa e gordura de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos	Carcaça(%)	Peito(%)	Coxa/Sobrecoxa(%)	Gordura(%)
Controle	80,26	31,87	22,38	1,21a
β -Mananase ¹	79,93	31,5	22,78	1,12ab
Muramidase ²	80,54	31,89	22,51	0,88b
Man+Mur ³	80,72	31,71	22,77	1,18a
EPM	0,218	0,378	0,172	0,046
P-valor	0,167	0,984	0,816	0,045

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem entre si (Tukey, $p \leq 0,05$).

¹ 500 AMNU/kg de β -mananase

² 35.000 LSU/kg de muramidase

³ 250 AMNU/kg de β -mananase + 35.000 LSU/kg de muramidase

Não houve diferença no pH avaliado aos 18 dias (pH 18) entre os tratamentos ($P > 0,05$, Figura 1). Aos 39 dias (pH 39), a adição das enzimas de forma isolada levou a um pH significativamente menor ($P < 0,05$), em comparação ao tratamento controle.

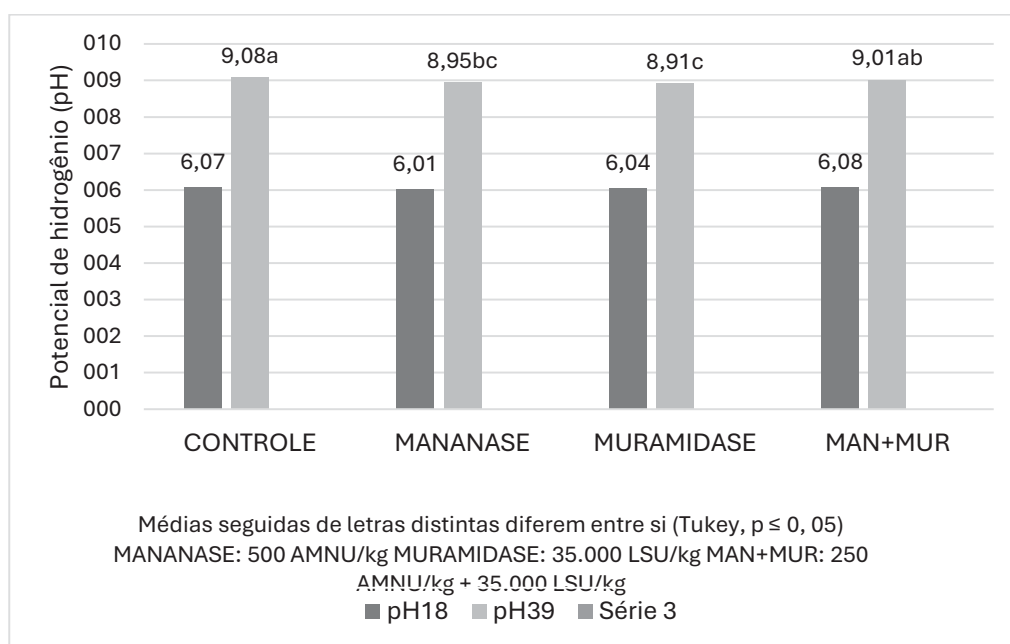


Figura 1 – Avaliação do pH da cama aos 18 (pH18) e 39 dias (pH39).

Entretanto, outras variáveis de qualidade da cama, como temperatura, concentração de nitrogênio e fósforo e coeficiente de resíduo não foram afetadas ($P > 0,05$, Tabela 5).

Tabela 5. Efeito da inclusão de β -mananase e muramidase, combinadas ou não, sobre a concentração de nitrogênio (N) e fósforo (P), coeficiente de resíduo (Cr) e temperatura da cama.

Tratamentos	N (g/kg)	P (g/kg)	Cr	Temperatura (°C)
Controle	0,199	0,409	0,550	30,44
β -Mananase ¹	0,225	0,393	0,565	31,05
Muramidase ²	0,206	0,332	0,546	28,94
Man+Mur ³	0,207	0,362	0,548	29,98
EPM	0,006	0,011	0,004	0,354
P-valor	0,476	0,074	0,370	0,195

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem entre si (Tukey, $p \leq 0,05$).

¹ 500 AMNU/kg de β -mananase

² 35.000 LSU/kg de muramidase

³ 250 AMNU/kg de β -mananase + 35.000 LSU/kg de muramidase

4. DISCUSSÃO

A ausência de efeito significativo dos tratamentos sobre o desempenho durante a fase inicial sugere que a suplementação enzimática pode atenuar os efeitos de dietas com menor densidade energética, resultando em desempenho semelhante ao grupo controle. Além disso, esse resultado pode ser atribuído a imaturidade do trato gastrointestinal desses animais, o que significa que a presença de substratos ideais para a ação da muramidase, PGNs das células bacterianas mortas, pode ser limitada nos primeiros dias de vida. À medida que o trato gastrointestinal amadurece, geralmente após as primeiras duas semanas de vida, a microbiota é mais estável e as enzimas exógenas têm maior potencial de atuação, o que explica o surgimento de efeitos significativos sobre o desempenho das aves no período subsequente (Maiorka et al., 2006).

O maior consumo aos 21 dias dos animais que receberam a dieta controle em relação a aqueles que receberam a dieta contendo as enzimas combinadas indica que a combinação de enzimas ajudou a compensar as 100 kcal a menos, reduzindo a necessidade de ingestão de ração. Adicionalmente, deve-se considerar que a dieta controle apresentava maior teor de óleo, o que contribui para sua maior palatabilidade. O maior ganho de peso observado no grupo controle provavelmente ocorreu devido a maior ingestão aliado ao maior aporte calórico da dieta. A falta de significância no CR, GP E CA aos 42 dias sugere que as enzimas conseguiram, ao longo do tempo, compensar o déficit calórico.

A redução na porcentagem de gordura nas aves alimentadas com muramidase isolada pode ser atribuída ao melhor aproveitamento dos nutrientes, refletido também na melhora da CA aos 21 dias. Visto que, a maior porcentagem de gordura foi observada nas aves alimentadas com β -mananase, que apresentaram pior CA no mesmo período e nas aves que ingeriram a dieta controle, que possuía maior aporte calórico. Além disso, o melhor aproveitamento de nutrientes refletido na menor porcentagem de gordura está alinhado com os resultados de digestibilidade, visto que, o grupo que ingeriu muramidase isolada apresentou maior digestibilidade da MO e da energia, provavelmente devido à capacidade da enzima de degradar PGNs que causam prejuízos diretos à digestão e absorção de nutrientes. Os resultados obtidos neste estudo corroboram os achados de Pérez-Calvo et al. (2023), que relataram aumento significativo na digestibilidade de nutrientes com a adição de muramidase. Esse efeito positivo também foi observado nos trabalhos de Goes et al. (2022), que demonstraram melhorias na CA das aves durante todo o período experimental e na digestibilidade da MS, gordura e cinzas quando alimentadas com 35.000 LSU (F)/kg da enzima, em outro experimento, a mesma dose de muramidase também promoveu aumento no ganho de peso e melhora da conversão alimentar de frangos submetidos a desafio intestinal, evidenciando a eficácia da muramidase na melhoria do desempenho zootécnico mesmo em condições adversas. Esses achados reforçam o potencial da muramidase como uma ferramenta eficaz para melhorar a digestibilidade dos nutrientes e reduzir a deposição de gordura corporal nas aves. Os animais que ingeriram a β -mananase de forma isolada apresentaram maior digestibilidade de matéria orgânica do que aqueles que receberam a combinação das enzimas, possivelmente devido a interações negativas entre elas, que reduzem a eficiência individual. É importante salientar que, por recomendações do fabricante, a dose de β -mananase foi reduzida pela metade quando administrada em combinação com a muramidase, o que pode ter comprometido a degradação eficiente dos substratos. Além disso, a combinação não apresentou efeito sinérgico para digestibilidade de energia, isso indica que ajustes nas proporções das enzimas são necessários para maximizar os benefícios nutricionais.

O menor pH da cama dos animais que consumiram as dietas contendo as enzimas β -mananase e muramidase mostra o potencial das enzimas quando separadas de reduzir a excreção de resíduos que podem elevar o pH da cama. Entretanto, essa redução ocorreu sem alterar o coeficiente de resíduo, ou seja, sem alterar a

quantidade total de material residual. Outras variáveis como qualidade da cama, temperatura, concentração de nitrogênio e fósforo também não foram afetadas. Entretanto, os resultados indicam uma tendência de menor excreção de fósforo (P) pelas aves que consumiram dietas contendo muramidase em comparação com aquelas alimentadas com a dieta controle. Embora o valor de P obtido não tenha sido estatisticamente significativo ($p = 0,074$), essa tendência sugere que a inclusão de muramidase pode influenciar positivamente a utilização do fósforo nas dietas. Esses achados estão em consonância com os resultados de Goodarzi Boroojeni et al. (2019) que observaram uma melhoria linear na digestibilidade aparente de fósforo em grupos suplementados com muramidase, sugerindo que a enzima pode atuar sinergicamente com fitases para melhorar a disponibilidade de fósforo. Assim, a tendência observada neste estudo reforça a possibilidade de que a muramidase, ao degradar PGNs, pode melhorar a digestibilidade de fósforo, levando a uma menor excreção do nutriente. Isso pode implicar tanto na eficiência nutricional quanto no impacto ambiental da produção de aves.

2.

5. CONCLUSÃO

A inclusão de muramidase isolada na dieta melhora a conversão alimentar, reduz a gordura e aumenta a digestibilidade da matéria orgânica e da energia mesmo com um déficit de 100 kcal em relação à dieta controle. As enzimas, tanto de forma isolada quanto combinadas, mostram alta eficácia na manutenção do desempenho zootécnico nas fases inicial e final do ciclo de produção, preservando o rendimento de carcaça e cortes em níveis equivalentes aos da dieta controle. Além disso, a utilização das enzimas contribui para parâmetros de sustentabilidade, incluindo a melhora da conversão alimentar, a redução do pH da cama e uma tendência à menor excreção de fósforo. Esses resultados destacam o potencial das enzimas β -mananase e muramidase como ferramentas eficientes para otimizar o desempenho produtivo, melhorar a funcionalidade intestinal e promover práticas nutricionais mais sustentáveis na avicultura.

REFERÊNCIAS

- BATAGLIA, O. C. et al. Métodos de análise química de plantas. Campinas: **Instituto Agrônomo**, 1983. 48 p. (Boletim Técnico, 78).
- GIRARDIN S. E. et al. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by Nod1 and Nod2. **Nature Chemical Biology**. 2003.
- GOES, E.C. et al. Effects of a microbial muramidase on the growth performance, intestinal permeability, nutrient digestibility, and welfare of broiler chickens. **Poultry Science**, v.101, n.12, p.102232, 2022.
- GOODARZI BOROOJENI, F. et al. Evaluation of a microbial muramidase supplementation on growth performance, apparent ileal digestibility, and intestinal histology of broiler chickens. **Poultry Science Association**, v.98, p.2080–2086, 2019.
- Hsiao, H. Y; Anderson, D. M.; Dale, N.M. Levels of β -mannan in soybean meal. **Poultry Science**, v. 85, p. 1430-1432, 2006.
- KONG, C.; LEE, J. H.; ADEOLA, O. Supplementation of beta-mannanase to starter and grower diets for broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 91, p. 389-397, 2011.
- LAMBRÉ, C. et al. Safety evaluation of the food enzyme mannan endo-1,4- β -mannosidase from the genetically modified *Aspergillus niger* strain NZYM-NM. **EFSA Journal**, 20(4), 7264, 2022.
- LEE, J. T.; BAILEY, C. A.; CARTWRIGHT, A. L. Beta-mannanase ameliorates viscosity associated depression of growth in broiler chickens fed guar germ and hull fractions. **Poultry Science**, v. 82, p. 1925-1931, 2003.
- LICHTENBERG, J. et al. Safety evaluation of a novel muramidase for feed application. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 89, p. 57-69, out. 2017.
- MACHADO, L. C.; GERALDO, A.; SANTOS, T. A. Valorização de dietas para aves e suínos a partir da inclusão de fitase. Em: III Semana de Ciência e Tecnologia IFMG, 2010.
- MAIORKA, A.; DAHLKE, F.; MORGULIS, M. S. F. A DE. Broiler adaptation to post hatching period. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 36, n. 2, 2006
- MEHRI, M. et al. Effects of beta-mannanase on broiler performance, gut morphology and immune system. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 6221-6228, 2010.
- MOURA, F. A. S. et al. Complexos enzimáticos sobre a energia metabolizável e a digestibilidade dos nutrientes do milho para frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, p. 990-996, 2019.

MUSSINI, F. J.; COTO, C. A.; GOODGAME, S. D.; LU, C.; KARIMI, A. J.; LEE, J. H.; WALDROUP, P. W. Effects of beta-mannanase on nutrient digestibility in corn-soybean meal diets for broiler chicks. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 774-777, 2011.

OLIVEIRA, M. C. et al. Teor de matéria seca, pH e amônia volatilizada da cama de frango tratada ou não com diferentes aditivos. **Produção Animal**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 4, p. 22, 2003.

PÉREZ-CALVO, E.; AURELI, R.; SORBARA, J. O. B.; COWIESON, A. J. A muramidase dietética aumenta a digestibilidade ileal de aminoácidos de dietas de frangos de corte à base de trigo e milho sem afetar as perdas endógenas de aminoácidos. **Ciência Avícola**. 2023.

POULSEN, K.; MATHLOUTHI, N.; BARGEN, J. Meta-analysis on the effect of dietary β -mannanase on intestinal integrity in broiler chickens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 32, n. 159, p. 100307, out. 2022.

SACAKLI, Pinar. et al. Effect of dietary β -mannanase supplementation on growth performance and nutrient retention in broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets with low energy and amino acid density. **Poultry Science**, v. 104475, 2024.

STREHLER, A.; SUTZLE, W. Biomass residues. In: HALL, D. O. (Ed.). Biomass: renewable energy. Chichester: John Wiley & Sons, 1987.

STROBER W, MURRAY PJ, KITANI A, et al. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. **Nature Reviews Immunology** 6, 9–20. 2006.

VAN KEULEN, J.; YOUNG, B. A. Evaluation of acid in soluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal of Animal Science**, v. 44, p. 282-287, 1977.

VIDAL, M. L.; GAUTRON, J.; NYS, Y. Development of an ELISA for quantifying lysozyme in hen egg white. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2379-2385, 2005.

WANG, Y.; GOOSSENS, E.; EECKHAUT, V. et al. A muramidase dietética degrada o peptidoglicano bacteriano em dipeptídeos muramil ativadores de NOD e reduz a inflamação duodenal em frangos de corte. **British Journal of Nutrition**, v. 126, n. 5, p. 641-651, 2021.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 006/2023, referente ao projeto de pesquisa “Avaliação do efeito de enzimas dietéticas e nível de inclusão no desempenho zootécnico de frangos de corte”, sob a responsabilidade de Alex Maiorka – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em 05/04/2023.

Vigência do projeto	Abril/2023 até Junho/2023
Espécie/Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> (ave)
Número de animais	2800
Peso/Idade	45g/1 dia
Sexo	Macho
Origem	Incubatório comercial de Castro, Paraná, Brasil

*A autorização para início da aula se torna válida a partir da data de emissão deste certificado.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 006/2023, regarding the research program “Evaluation of the effect of dietary enzymes and inclusion level on the zootechnical performance of broilers” under Alex Maiorka – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, on 2023, April 5th.

Purpose	Research
Validity	2023 April until 2023 June
Specie/Line	<i>Gallus gallus domesticus</i> (poultry)
Number of animals	2800
Weight/Age	0.099lb/1 day old
Sex	Male
Origin	Commercial Hatchery in Castro, Paraná, Brazil

*The authorization to start the research becomes valid from the date of issue of this certificate.

Curitiba, 05 de Abril de 2023



Maity Zopollatto
Vice-coordenadora
Comissão de Ética no Uso de Animais
AG - UFPR