



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ENZIMAS FIBROLÍTICAS EM DIETAS DE NOVILHAS
LEITEIRAS**

GUILHERME ARAGÃO MIRANDA

Dourados - MS

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ENZIMAS FIBROLÍTICAS EM DIETAS DE NOVILHAS LEITEIRAS

GUILHERME ARAGÃO MIRANDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de Concentração: Produção Animal.

Orientador: **Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes**

Co-orientador: **Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra**

Dourados - MS

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

M672e Miranda, Guilherme Aragao

Enzimas fibrolíticas em dietas de novilhas leiteiras / Guilherme Aragao
Miranda -- Dourados: UFGD, 2017.
40f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
Co-orientador: Jefferson Rodrigues Gandra

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias,
Universidade Federal da Grande Dourados.
Inclui bibliografia

1. digestibilidade. 2. fermentação ruminal. 3. xilanase. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo autor.

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

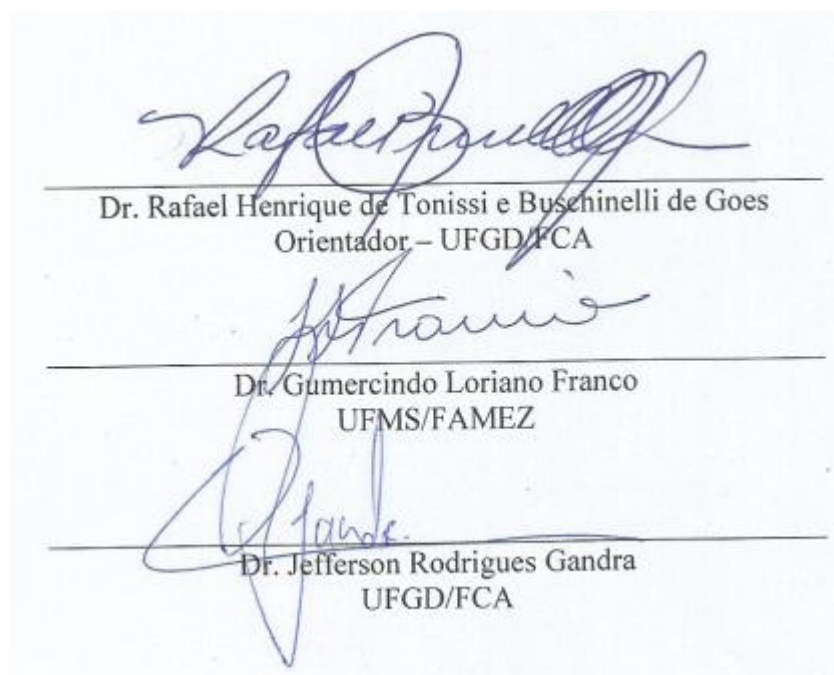
ENZIMAS FIBROLÍTIICAS EM DIETAS DE NOVILHAS LEITEIRAS

por

GUILHERME ARAGÃO MIRANDA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE
EM ZOOTECNIA

Aprovada em: 06/03/2017



Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
Orientador – UFGD/FCA

Dr. Gumercindo Loriano Franco
UFMS/FAMEZ

Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
UFGD/FCA

"Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes." (Marthin Luther King)

AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar meus passos e minhas decisões, por ser a força que me motiva a viver e lutar por meus sonhos e ideais.

À minha família por ser a razão de continuar seguindo em frente, mesmo enfrentando dificuldades e barreiras em meu caminho. Sem a confiança, carinho e apoio deles eu não conseguiria chegar até aqui. Compartilho minhas vitórias com todos.

Aos meus amigos, distantes e próximos, por serem uma fonte inesgotável de motivação e incentivo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes e ao co-orientador Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra, primeiramente pela disponibilidade, oportunidade, boa vontade e fundamental apoio em me orientar, confeccionar e desenvolver este trabalho. Obrigado pelo apoio moral, atenção paciência em me orientar e, principalmente, pela amizade. Tenho por eles imensa gratidão por me ajudar a evoluir e procurar novos desafios.

À toda equipe do NERU – Grupo de Estudos em Nutrição e Produção de Ruminantes e à equipe do grupo de estudos em bovinocultura de leite da FCA/UFGD, em especial aos alunos de graduação, agradeço pelo auxílio e dedicação em todo o desenvolvimento deste trabalho, transformando todas dificuldades e desafios em realizações ímpares.

Aos funcionários e colaboradores dos setores de bovinocultura e dos laboratórios da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD e da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP/Jaboticabal, por toda dedicação e atenção durante as análises realizadas.

À Alltech pelo fornecimento da enzima fibrolítica utilizada no desenvolvimento deste trabalho.

À toda equipe de professores do curso de pós-graduação em zootecnia da FCA/UFGD por serem brilhantes exemplos de profissionais. Cada um ajudou-me a evoluir, tanto no meio acadêmico como no pessoal. Obrigado por me desafiar.

E a todos que indiretamente contribuíram para o meu desenvolvimento, os meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

Guilherme Aragão Miranda, filho de Osório Rodrigues Miranda e Sandra Helena Pereira Aragão, nasceu em 26 de abril de 1992, na cidade de Campo Grande – Mato Grosso do Sul.

Em fevereiro de 2010 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, sendo bolsista de iniciação científica/CNPq e participante do Programa de Educação Tutorial – Zootecnia durante toda a graduação, graduando-se em março de 2015.

Em março de 2015 ingressou no programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados, desenvolvendo estudos na área de Produção de Ruminantes, submetendo-se à qualificação de mestrado em 28 de novembro de 2016.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas experimentais.	10
Tabela 2. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes	17
Tabela 3. Fermentação ruminal de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica .	18
Tabela 4. Síntese de proteína microbiana de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica.....	19
Tabela 5. Balanço de nitrogênio de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica	20
Tabela 6. Balanço energético de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica ...	21
Tabela 7. Comportamento dos animais	22
Tabela 8. Excreção de compostos nitrogenados de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica.....	23
Tabela 9. Teores dos componentes sanguíneos de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica.....	24

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Novilhas leiteiras	4
2.2. Silagem de cana-de-açúcar x silagem de milho	5
2.3. Enzima na produção animal	7
3. OBJETIVO GERAL	9
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1. Animais, dietas e instalações	10
4.2. Análises bromatológicas	11
4.3. Consumo e digestibilidade	11
4.4. Fermentação ruminal	12
4.5. Síntese de proteína microbiana	13
4.6. Balanço de nitrogênio	14
4.7. Clearance de ureia e creatinina	14
4.8. Parâmetro sanguíneo	15
4.9. Comportamento ingestivo	15
4.10. Análises estatísticas	16
5. RESULTADOS	16
5.1. Consumo e digestibilidade dos nutrientes	16
5.2. Fermentação ruminal e síntese de proteína microbiana	18
5.3. Balanço de nitrogênio e balanço de energia	19
5.4. Excreção de compostos nitrogenados	22
5.5. Parâmetros sanguíneos	23
6. DISCUSSÃO	24
7. CONCLUSÃO	27
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

RESUMO

MIRANDA, Guilherme Aragão, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS, março de 2017. **Enzimas fibrolíticas em dietas de novilhas leiteiras**. Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co-orientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra.

Objetivou-se avaliar o efeito de inclusão de enzimas fibrolíticas na utilização de silagem de cana-de-açúcar e silagem de milho nos parâmetros ruminais e sanguíneos, no consumo e na digestibilidade de nutrientes. O experimento foi conduzido no setor de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em um período experimental total de 84 dias. Utilizou-se 8 novilhas da raça Jersey, com idade de $8\pm 2,5$ meses, com peso médio inicial de 160 ± 15 kg. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 quadrados latinos 4X4, balanceados e contemporâneos, em arranjo fatorial 2X2. O período experimental foi de 21 dias sendo que 14 para a adaptação das dietas experimentais e 7 para a coleta de dados. As dietas experimentais foram: 1- Silagem de Cana sem **Fibrozyme®**; 2 - Silagem de Cana com **Fibrozyme®**; 3 - Silagem de Milho sem **Fibrozyme®**; 4 - Silagem de Milho com **Fibrozyme®**. Os animais receberam 20g de **Fibrozyme®**/dia. O fornecimento de enzima aumentou a digestibilidade da MS e FDN das dietas e o aumento da digestibilidade da FDN foi mais evidente quando a enzima foi fornecida para as novilhas alimentadas com silagem de cana-de-açúcar. Os animais alimentados com silagem de cana-de-açúcar apresentaram síntese de proteína microbiana mais inferior do que aqueles alimentados com silagem de milho. Os menores valores para ingestão de nitrogênio e nitrogênio urinário foram observados em novilhas alimentadas com silagem de cana-de-açúcar com adição de enzima, enquanto os demais tratamentos mostraram ingestão de nitrogênio e produção urinária similares. Os tratamentos com adição de enzima demonstraram uma diminuição na excreção de ureia, aumento no tempo gasto com a alimentação, na digestibilidade da FDN, na razão entre acetato e propionato e eficiência de mastigação e alimentação dos animais. A adição de enzima alterou o comportamento ingestivo das vacas, aumentando a eficiência da mastigação e da alimentação.

Palavras-Chave: digestibilidade; fermentação ruminal; xilanase.

ABSTRACT

This work aims to evaluate the effect of the fibrolytic enzyme on the use of sugarcane silage and corn silage in ruminal and blood parameters, nutrient consumption and degradability with or without inclusion of fibrolytic enzyme in sugarcane silage and corn silage offered to the animals to establish the inclusion or not of this enzyme in the diet and its use with sugarcane silage or corn silage in the diet of dairy heifers. The experiment was conducted in the Animal Science sector of the Federal University of Grande Dourados (UFGD), with a total experimental period of 84 days. Eight heifers of the Jersey breed, 8 ± 2.5 months old, with an average weight of 160 ± 15 kg were used. The animals were randomly divided into 2 latin squares 4X4, balanced and contemporary, in a 2X2 factorial arrangement. The experimental period was 21 days, 14 for the adaptation of the experimental diets and 7 for the data collection. The experimental diets were: 1 - Cane Silage without Fibrozyme®; 2 - Cane Silage with Fibrozyme®; 3 - Corn Silage without Fibrozyme®; 4 - Corn Silage with Fibrozyme®. Animals received 20g of Fibrozyme®/day. The supply of enzyme increased the digestibility of DM in both diets with different forage sources and increased digestibility of NDF was more evident when the enzyme was supplied to heifers fed with sugarcane silage. The addition of fibrolytic enzyme in silages increased the ratio of acetate to propionate. The animals fed with sugarcane silage presented a lower microbial protein synthesis than those fed corn silage. The lowest values of nitrogen and urinary nitrogen intake were observed in heifers fed with sugarcane silage with addition of enzyme, while the other treatments showed similar nitrogen intake and urinary production. Enzyme addition treatments demonstrated a decrease in urea excretion. The addition of enzyme increased the time spent with feeding and, consequently, tended to decrease the idleness of the animals. Fibrolytic enzyme significantly increased digestibility of NDF in cows fed sugarcane silage or corn silage, with similar NDF results in cows fed corn silage without enzyme supplementation. The enzymatic product altered the ingestive behavior of cows, increasing the efficiency of chewing and feeding. The enzymatic product altered the ingestive behavior of cows, increasing the efficiency of chewing and feeding.

Key-words: digestibility; ruminal fermentation; xylanase.

1. INTRODUÇÃO

A criação de novilhas deve ser considerada como uma atividade primordial dentro de uma propriedade produtora de leite. Isso deve-se ao fato de que o melhoramento genético do rebanho depende do descarte anual das fêmeas mais velhas, improdutivas ou com problemas de reprodução, por fêmeas mais jovens e de potencial genético e produtivo maior (Santos e Damasceno, 1999).

A criação de fêmeas para reposição de matrizes produtoras de leite é uma tarefa onerosa e difícil para a grande maioria das propriedades, fator esse que justifica a procura pela terceirização nessa atividade ou fazendo a aquisição de novilhas aptas à parição, uma vez que essa categoria animal representa o segundo maior custo na atividade leiteira, sendo menos onerosa somente que a alimentação das vacas em lactação. O objetivo do sistema de manejo e criação de novilhas de reposição é a produção de vacas de excelente qualidade (Sejrsen e Purup, 1997). A principal característica que determina a qualidade deste animal é o potencial de produção de leite da novilha como vaca (Schafhäuser Jr., 2006).

O aditivo nutricional à base de enzima é caracterizado pelo extrato enzimático concentrado produzido por fermentação fúngica ou bacteriana (Queiroz et al., 2004).

Fisiologicamente, ocorrem diferentes modos de ação de enzima exógenas, o que vão a nível fisiológico, há uma série de modos de ação de enzima exógenas, o que pode ser desde processos mais simples como a liberação de carboidratos solúveis ou processos mais complexos como a alteração de barreiras estruturais à absorção de nutrientes (Beauchemin et al., 2002). O modo de ação depende do tipo de alimento consumido e da enzima utilizada. A aplicação de enzimas exógenas na alimentação animal objetiva entender como a enzima trabalha em conjunto com os microrganismos presentes no rúmen, para que haja a liberação de açúcares (Nogueira et al., 2013).

As enzimas fibrolíticas na produção animal vêm sendo observadas e utilizadas em vários experimentos nas últimas décadas, apresentando resultados satisfatórios, garantindo a consistência das informações dos resultados obtidos.

Assim, conduziu-se este estudo, com objetivo de avaliar o efeito da inclusão de enzimas fibrolíticas na utilização de silagem de cana-de-açúcar e silagem de milho nas variáveis

ruminais e sanguíneos, no consumo e na degradabilidade de nutrientes com a inclusão ou não de enzima fibrolítica na dieta de novilhas leiteiras.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Novilhas leiteiras

A criação de novilhas leiteiras deve ser considerada como atividade primordial dentro da propriedade. Isso deve-se ao fato de que o rebanho depende do descarte anual de fêmeas velhas, improdutivas ou com problemas de reprodução, por fêmeas mais jovens e de potencial genético e produtivo maior (Santos e Damasceno, 1999).

A criação de fêmeas repositoras de matrizes produtoras de leite é uma atividade onerosa e difícil para a grande maioria das propriedades, fator esse que justifica a procura pela terceirização nessa atividade ou fazendo a aquisição de novilhas aptas a parição, uma vez que essa categoria animal representa o segundo maior custo na atividade leiteira, sendo menos onerosa somente pela alimentação das vacas em lactação (Lopes et al., 2010). O custo oneroso da alimentação dessas novilhas é um dos principais problemas durante essa fase, não havendo retorno durante esse período de crescimento dos animais (Chizzotti et al., 2006). As novilhas também ocupam uma área relativamente grande dentro da propriedade, área esta que poderia ser ocupada por animais em produção.

Uma estratégia comumente utilizada em países que adotam a pecuária intensiva é realizar o primeiro serviço das novilhas entre os 13 e 15 meses de idade. Esse interesse se deve ao fato de que a eficiência biológica nas fêmeas com o primeiro parto aos dois anos de idade é maior comparada as fêmeas paridas aos 3 ou 4 anos de idade (Morrison, 1997). Hoffman (1970), NRC (2001) e outros afirmaram que ganhos de peso de 0,8 a 0,9 kg/dia propiciam a ocorrência do primeiro parto antes aos dois anos de idade. Segundo o NRC (1989), o peso ideal de novilhas *Bos taurus* para o primeiro serviço é de 60% do seu peso adulto.

A nutrição inadequada das novilhas é a causa mais comum dos problemas que levam a elevada idade ao primeiro parto em sistema de produção de gado de leite. O manejo nutricional utilizado nesse sistema geralmente não permite o pleno desenvolvimento das novilhas, fazendo com que esses animais não atinjam o peso ideal à puberdade e a concepção mais precoce, o que provoca efeitos negativos em sua vida produtiva. A elevada idade ao primeiro parto ocasiona

em um aumento no custo de criação de fêmeas (Mendes Neto et al., 2007).

2.2. Silagem de cana-de-açúcar x silagem de milho

O milho e a cana-de-açúcar são forrageiras comumente utilizadas para a ensilagem, pois possuem grande produção de massa verde, resultando em um melhor processo de fermentação e conseqüentemente uma silagem de grande valor nutritivo (Pinho et al., 2006).

A utilização de silagens tem sido uma eficiente solução para os períodos de baixa produção de forragens, proporcionando volumoso de boa qualidade e largamente utilizado na alimentação de ruminantes. O milho é uma das melhores plantas para ensilar, pois apresenta boa produção de MS por hectare e elevado valor nutritivo. No momento propício ao corte, possui adequado teor de MS e carboidratos solúveis, o que lhe confere ótimas condições para sua conservação na forma de silagem (ALMEIDA, 2000), produzindo alimento de ótima qualidade e de boa aceitação pelos animais.

A silagem de milho é utilizada como alternativa de suplementação na maioria dos sistemas de produção de leite (Nussio, 1993). No entanto, apesar das vantagens que essa tecnologia apresenta, o custo para a produção da mesma é relativamente alta. Apresenta adequados teores de carboidratos solúveis, o que acarreta à fermentação láctica, promovendo a conservação de um alimento de alto valor nutritivo (Caetano, 2001).

A alta produtividade da cana-de-açúcar como forragem na alimentação de ruminantes é a alta produtividade de massa verde, que fica em torno de 100 t/ha, baixo custo de produção por matéria seca e o período de colheita perto do período de escassez de forragem nas pastagens (Silva 1993). Entretanto, o baixo teor de proteína, o desbalanço de mineral, a fibra de baixa degradação ruminal faz com que a utilização da cana-de-açúcar na dieta de animais seja mais difícil (Preston, 1982).

Há limitações quanto ao consumo dessa forrageira por bovinos, particularmente os de raças leiteiras com níveis médio e alto de produções de leite, decorrentes, principalmente, da baixa digestibilidade da fibra (Magalhães et al., 2004), o que pode comprometer o consumo voluntário.

Tais limitações na utilização da cana-de-açúcar em dietas de vacas leiteiras acarretam em redução do consumo, influenciando negativamente no desempenho em relação aos

resultados obtidos com a silagem de milho, restringindo a sua utilização na alimentação de animais de alta produção (Dado & Allen, 1995). Porém, alguns autores comprovaram que a cana-de-açúcar apresentam valores parecidos aos de silagem de milho para produções de leite quando o nível de concentrado ingerido é maior que 50% (Mendonça et al., 2004).

A principal limitação para a produção da cana-de-açúcar é a redução de consumo, ocasionada principalmente pela baixa digestibilidade da fibra (Valadares Filho et al., 2002). No caso da cana-de-açúcar, uma alternativa para sua utilização pode ser a redução de seu uso na dieta de acordo com o aumento da participação de concentrado. Estas mudanças podem proporcionar maior aporte de matéria orgânica digestível, o que levaria a um aumento da concentração de energia, diminuição da concentração de fibra de baixa digestibilidade e, conseqüentemente, ao maior consumo de matéria seca para atender às exigências energéticas do animal (Costa et al., 2005).

Vacas em lactação com alta produção em sistemas de confinamento apresentam reduções no consumo de matéria seca quando há substituição de silagem de milho por silagem de cana-de-açúcar em dietas com concentrado, o que acarreta em menor produção de leite e elevado índice de mobilização das reservas corporais, podendo comprometer a eficiência reprodutiva (Magalhães et al., 2004; Mendonça et al., 2004; Costa et al., 2005).

Geralmente a quantidade de fibra não difere entre a silagem de cana-de-açúcar e a silagem de milho (Valadares Filho et al., 2002). A redução do consumo em animais que recebem silagem de cana-de-açúcar está associada ao maior teor de fibra indigestível e à menor taxa de digestão da fração fibrosa, que resulta em maior tempo de retenção do bolo alimentar no trato digestório do ruminante e reduz a taxa de passagem (Allen, 2000).

Analisando esses efeitos, Costa et al. (2005) observaram que o aumento na quantidade de concentrado em níveis próximos de 60% de matéria seca em dietas para vacas de alta produção resulta na diminuição da ocorrência de redução do consumo da silagem pelos animais. Sendo o concentrado o maior custo na produção de leite em sistema de alta produção, a substituição de fontes de energia tradicionais, como o milho, por subprodutos demonstra a possibilidade econômica de utilização de maiores níveis de concentrado nas dietas (Ferreira, 2002).

2.3. Enzima na produção animal

Os ruminantes são animais capazes de aproveitar com eficiência alimentos com alta quantidade de fibra de baixa qualidade, devido à população microbiana presente no rúmen, agindo através da síntese e secreção de enzimas endógenas capazes de realizar a hidrólise dos constituintes da fibra da parede celular da fibra. Mesmo que os microrganismos do rúmen consigam fazer a digestão dos compostos fibrosos, celulose e outros carboidratos, os fatores relacionados a anatomia estrutural da planta, como a relação entre hemicelulose e lignina, e os fatores relacionados ao animal, como tempo de mastigação, a salivagem e o pH ruminal, podem limitar o processo de digestão dos alimentos no rúmen (Martins et al., 2006). Resultado disso são as recorrentes pesquisas sendo efetuadas nas últimas décadas sobre programas biotecnológicos alternativos de alimentação ruminal, com o objetivo de maximizar a utilização dos nutrientes.

A enzima utilizada como aditivo nutricional é caracterizada pelo extrato enzimático concentrado produzido por fermentação fúngica ou bacteriana (Queiroz et al., 2004), com o intuito de melhorar a eficiência de síntese e aproveitamento de alimentos através da adição de produtos biotecnológicos na dieta. A suplementação de dietas com enzima fibrolítica exógenas compostas por celulasas e hemicelulasas são focos de estudos pois aumentam a taxa de degradação da fibra e potencializam a degradação dos carboidratos fibrosos (Newbold, 1997).

Feng et al. (1996), trabalharam com adição de enzima fibrolítica na alimentação de ruminantes e apresentaram resultados com aumento na degradabilidade de matéria seca e da FDN, no ganho de peso de bovinos (Beauchemin et al., 1995) e na produção de leite (Bassiouni et al., 2010).

Beauchemin et al. (1999) e Bassiouni et al., 2010 trabalhando com vacas em lactação verificaram efeito da adição de enzima fibrolítica sobre o tempo de retenção ruminal das partículas, sendo este menor em comparação ao tratamento controle.

Pesquisas desenvolvidas por McAllister et al. (1999) avaliando o desempenho de novilhos em confinamento, demonstram aumento de 12,3% na ingestão de MS e de 23,4% no ganho médio diário com a suplementação enzimática através de celulase e xilanase. Pesquisa realizada por Lewis et al. (1995) trabalhando com vacas em lactação consumindo forragem e suplementação enzimática, demonstrou aumento de 5 a 25% no consumo de MS e na produção de leite.

Efeitos da adição de enzima fibrolítica exógenas no intestino delgado demonstram aumento de 30% na atividade da xilanase no intestino com a suplementação dessa enzima efetuada na dieta dos animais (Hristov et al., 2005). Os mesmos autores observaram redução na viscosidade intestinal quando fornecidos altos níveis de enzima, o que acarreta na maior absorção dos nutrientes no intestino.

Queiroz et al. (2004) avaliaram o fornecimento de enzima fibrolítica (5 e 10 g/animal/dia) associada com levedura (5 g/animal/dia) para bovinos. Os autores observaram que essa associação não proporcionou melhora no consumo e na digestibilidade dos nutrientes, não afetando o consumo de alimento, o ganho médio diário e a conversão alimentar.

Estudos realizados por McAllister et al. (1999) sugerem que o fornecimento da enzima diretamente no alimento seria mais eficaz quando administradas diretamente ao rúmen. Porém, observações de Morgavi et al. (2000) estudando o efeito de enzima fibrolítica incubadas *in vitro* com digesta ruminal de ovinos, observaram que o fator limitante na ação da enzima sobre os alimentos não foi a estabilidade das mesmas no fluido ruminal.

Rodes et al. (1997) observaram que a adição de enzima fibrolítica com adição de silagem de milho em rações não alteraram o consumo de matéria seca, porém aumentou a digestibilidade total dos nutrientes.

Aumento de 11% na produção de leite e 20 e 13%, respectivamente, no teor de gordura e proteína do leite com a adição de celulase e xilanase em dietas contendo silagem de milho foi observado por Schingoethe et al. (1999).

Martins et al. (2007) pesquisaram o efeito de adição de enzima fibrolítica sobre a digestibilidade *in situ* de constituintes bromatológicos de Tifton-85 (*Cynodon* spp.) e do bagaço de cana não observaram efeitos significativos sobre os parâmetros de degradação desses volumosos.

A aplicação de enzima exógenas na alimentação de ruminantes tem sido utilizada para aumentar a digestibilidade da forragem e o consumo voluntário de volumosos. Pesquisas validam essa aplicação, demonstrando que a introdução de enzima exógenas melhora a digestibilidade da forragem e o desempenho animal (Queiroz et al., 2004).

As xilanases desempenham a função de degradação de carboidratos hemicelulósicos do alimento, fornecendo açúcares para as bactérias presentes no rúmen. Há uma rápida proliferação

das bactérias ruminais, quando há presença desses xilooligossacarídeos, acarretando na melhoria da eficiência do processo de digestão (Loures, 2004).

As xilanases são extraídas de fungos do gênero *Aspergillus*, que são utilizados pela indústria de alimentos para os animais. Os fungos apresentam grande importância no papel de degradação de fibra, pois estes penetram na cutícula e na parede celular dos tecidos lignificados. A adição de xilanases pode alterar as atividades fisiológicas da microbiota ruminal (Colombatto et al., 2003). É possível observar o aumento na produção de propionato e butirato, enquanto há redução na produção de acetato e metano (Eun & Beauchemin, 2007).

Hirstov et al. (1997), observaram aumento da atividade enzimática no intestino, principalmente atividade de xilanase, demonstrando que as enzimas podem ser resistentes à digestão no rúmen e abomaso, podendo também afetar a utilização de nutrientes no intestino.

Giraldo et al. (2008), trabalharam com suplementação enzimática contendo xilanase em vacas leiteiras e observaram que o número de bactérias celulolíticas aumentou, porém, a adição de enzima não influenciou a digestibilidade da dieta. Entretanto, Arriola et al. (2011), observaram que a adição de enzima fibrolítica na dieta promoveram aumento na digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, FDN e FDA e também da eficiência da produção de leite em vacas leiteiras.

Salem et al. (2013), relataram aumento na digestibilidade dos nutrientes e aumento do peso vivo em 16% em bovinos de corte alimentados com dietas contendo enzima exógenas a base de endoglucoamilase, xilanase, α -amilase e protease. Em vacas leiteiras, Beauchemin et al. (2003) também observaram efeitos positivos, assim como em bovinos de corte.

Aumento de 11% na ingestão de matéria seca e 19% no ganho médio diário eram observados avaliando o desempenho de novilhos em confinamento recebendo suplementação enzimática contendo xilanase (McAllister, 1999).

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da inclusão de enzima fibrolítica na alimentação de novilhas leiteiras recebendo silagem de cana-de-açúcar ou silagem de milho.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar alteração dos parâmetros ruminais e sanguíneos, no consumo e na digestibilidade de nutrientes com a inclusão de enzima fibrolítica na silagem de cana-de-açúcar ou silagem de milho

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais, dietas e instalações

O experimento foi conduzido no setor de Nutrição de Ruminantes e no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizada nas coordenadas 22°11'43.49" de Latitude Sul e 54°55'77" de Longitude Oeste, com período experimental total de 84 dias, de maio a julho de 2015.

Foram utilizadas 8 novilhas da raça Jersey, com idade de 8±2,5 meses, com peso inicial médio de 160±15 kg. Os animais foram mantidos em baias individuais, com piso cimentado, com cocho e bebedouro. Os animais foram dispostos em delineamento DQL 4x4 duplo, balanceados e contemporâneos, em arranjo fatorial 2X2. O período experimental foi de 21 dias sendo que 14 para a adaptação das dietas experimentais e 7 para a coleta de dados.

As dietas experimentais foram: 1- Silagem de Cana sem **Fibrozyme**® (atividade xilanase 600 UI/g)/dia; 2 - Silagem de Cana; 3-Silagem de Milho; 4-Silagem de Milho com **Fibrozyme**® (atividade xilanase 600 UI/g)/dia. Os animais receberam 20g de **Fibrozyme**®(atividade xilanase 600 UI/g)/dia. As dietas experimentais foram formuladas de acordo com o NRC(2001), visando ganho de peso de 800 a 900 gramas por dia, sendo isonitrogenadas e tinham a mesma concentração em fibra em detergente neutro (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Item	Dietas*			
	SM	SC	SMF	SCF
Ingredientes (% MS)				
Silagem de milho	65,34	-	65,34	-
Silagem de cana	-	54,96	-	54,96
Milho fubá	20,08	23,87	20,08	23,87
Grão de soja cru inteiro	10,04	16,39	10,04	16,39
Uréia	2,12	2,34	2,12	2,34
Mineral mix†	2,42	2,44	2,42	2,44
Fibrozyme (g /dia)	-	-	20,00	20,00

Composição química (%)

Matéria seca	56,30	57,50	56,55	57,55
Matéria orgânica	95,03	95,03	94,82	94,82
Proteína bruta	16,3	16,4	16,3	16,4
Extrato etéreo	5,0	5,4	5,0	5,4
Fibra em detergente neutro	41,1	42,1	41,1	42,1
Carboidrato não fibroso‡	33,7	32,3	33,7	32,3
Cinzas	4,93	4,93	5,14	5,14
Nutrientes digestíveis totais§	69,00	66,00	69,00	66,00
Energia líquida§	1,57	1,51	1,57	1,51
Energia líquida de ganho§	1,00	0,90	1,00	0,90

*Silagem de milho (SM); Silagem de cana (SC); Silagem de milho + fibrozyme (SMF); Silagem de cana + fibrozime (SCF).

†Contém por quilograma: 120,00 g Ca, 88,00 g P, 75,00 mg I, 1300,00 mg Mn, 126,00 g Na, 15,00mg Se, 12,00mg S, 3,630,00 mg Co, 55,50 mg Cu e 1800,00 mg Fe.

‡CNF = $100 - [(\%PB - \%PB \text{ de ureia} + \% \text{ ureia}) + \%EE + \% \text{ cinzas} + \%FDN]$ de acordo com Hall (1998). §Calculado de acordo com NRC (2001).

4.2. Análises bromatológicas

As amostras de silagem, ingredientes do concentrado e sobras foram transportadas para o Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD e analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e Cinzas (CZ), conforme técnicas descritas por AOAC (2002). Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram calculados segundo Hall (1998) onde: $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Ureia} + \% \text{ Ureia}) + \%EE + \%MM + \%FDN]$. Os nutrientes digestíveis totais foram calculados conforme equações do NRC (2001), em que: $NDT = CNFd + PBd + (EEd * 2,25) + FDNd - 7$, onde PBd, CNFd, FDNd e EEd representam o total destes nutrientes digestíveis. O cálculo de Energia líquida, Energia de manutenção e Energia líquida de ganho, foram realizadas de acordo como o (NRC, 2001).

4.3. Consumo e digestibilidade

Diariamente foram realizadas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada animal, para estimativa do consumo. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 6:30 e às 13:00 horas, de acordo com o consumo no dia anterior, de forma a ser mantido percentual de sobras das dietas entre 5% e 10% do fornecimento, para que não houvesse limitação de consumo. As duas porções constituintes da ração, concentrado e volumoso, eram misturadas no cocho e fornecidas na forma de dieta completa. Após o preparo da mistura no cocho, as amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas e armazenadas a -20°C.

As sobras foram retiradas e pesadas. Para o fornecimento do volumoso e concentrado se fazia a pesagem em duas porções, para serem fornecidas aos animais nos dois fornecimentos diários. Durante o fornecimento, o concentrado e o volumoso eram homogêneos no cocho, e fornecidos na forma de dieta completa. Amostras das sobras de cada animal e ingredientes da dieta fornecida foram coletadas durante todo o período de avaliação de consumo, perfazendo amostras compostas dos diferentes dias, que após coletadas eram armazenadas a -20°C .

Para estimativa da digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes, foram realizadas coletas total de fezes entre os 17^o, 18^o e 19^o dias de cada período experimental. As amostras obtidas foram homogêneas para compor uma amostra composta de cada animal em cada período. As amostras de fezes coletadas foram pré-secas em estufa com ventilação forçada ($60^{\circ}\text{C}/72$ horas) e processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 1mm.

4.4. Fermentação ruminal

As amostras de líquido ruminal foram coletadas no 20^o dia de cada período, sendo a coleta realizada 4 horas após a alimentação, por sonda esofágica conforme descrito por Ortolani et al., 1981. Logo após a coleta foram determinados os valores de pH ruminal utilizando potenciômetro.

No laboratório as amostras foram centrifugadas a $2.000 \times g$ por 15 minutos, 1 mL do sobrenadante colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 mL de ácido fórmico P.A., arrolhado e identificado e armazenado em congelador a -20°C para determinação de ácidos graxos de cadeia curta (Erwin et al. 1961). Da mesma amostra 2 mL do sobrenadante foi pipetado e armazenado em tubos de ensaio contendo 1 mL de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

Para análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) misturou-se alíquotas (1600 μL) de amostras de líquido ruminal com ácido metanóico (400 μL), centrifugou-se $7000 \times g$ durante 15 minutos a 4°C e congelou-se o sobrenadante para análise adicional de ácidos graxos de cadeia curta.

As concentrações de AGCC ruminal foram medidas usando um cromatógrafo de gás (modelo GC-2104, Shimadzu, Tóquio, Japão) de acordo com o método descrito por Erwin et al. (1961) e adaptado por Getachew et al. (2002). O cromatógrafo a gás foi equipado com uma temperatura de injeção de temperatura e detector de ionização de chama duplo a 250°C e com

uma coluna capilar (Stabilwax, Restek, Bellefonte, PA) a 145°C. Os gases utilizados nas análises foram hélio como gás transportador (fluxo de 8,01 mL / min), hidrogênio como gás combustível (pressão de 60 kPa) e ar sintético como gás oxidante (pressão de 40 kPa). Preparou-se um padrão externo com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chem Service, Inc., West Chester, PA, EUA). Para o cálculo das concentrações de AGCC foi utilizado o software GCSolution (Shimadzu).

4.5. Síntese de proteína microbiana

A colheita de urina foi realizada no 16º dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação. Alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de 50 ml urina pura acrescida a 1 ml de ácido sulfúrico PA foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de ureia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética. O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo Oliveira et al. (2001).

A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da equação $EC = 32,27 - 0,01093 \times PV$ em que: EC = excreção diária de creatinina (mg/kg PV); e PV = peso vivo (kg). Os níveis de alantoína, de ácido úrico e alantoína foram determinados pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação $Pabs = (DP - 0,236 \cdot PV^{0,75}) / 0,84$, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $0,236 \cdot PV^{0,75}$, a excreção endógena de derivados de purina (Orellana Boero et al., 2001). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se

a equação (Chen & Gomes, 1992): $N_{mic} = (70 * P_{abs}) / (0,83 * 0,134 * 1.000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (Valadares et al., 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

4.6. Balanço de nitrogênio

O consumo de nitrogênio foi determinado retirando-se o valor de conversão de nitrogênio total das amostras para obtenção do valor de proteína bruta (6,25), obtendo-se quantidade em gramas de nitrogênio consumida. O mesmo cálculo foi realizado com os valores de proteína bruta das fezes obtendo-se a excreção total de nitrogênio em g/Kg MS.

O nitrogênio total das amostras de urina foi determinado de acordo com as metodologias descritas por AOAC (2002), onde a quantidade em gramas de nitrogênio para cada 100 mL de urina foi obtida dividindo-se o valor de proteína bruta das amostras pelo fator 6,25 para as amostras de urina. O balanço de nitrogênio foi obtido subtraindo o total de nitrogênio em gramas consumido pelos valores de nitrogênio na urina e fezes, obtendo-se os valores de nitrogênio retido em gramas e em porcentagem de nitrogênio total.

4.7. Clearance de ureia e creatinina

Coletou-se sangue no 15º dia de cada período experimental através da punção da veia jugular antes da alimentação do período da manhã. O sangue foi imediatamente centrifugado a 2.000 rpm por 15 minutos, obtendo-se o plasma, que foi armazenado a -15°C. As concentrações de creatinina e ureia no sangue foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética. A concentração de N-ureico plasmático foi obtida por meio do produto da concentração de ureia no plasma por 0,466, correspondente ao teor de N na ureia. A concentração de N da creatinina plasmático foi obtida por meio do produto da concentração de creatinina no plasma por 0,3715, correspondente ao teor de N na creatinina.

As depurações plasmáticas ou clearance de creatinina e ureia foram obtidas pela relação entre a excreção urinária em 24 horas e a concentração plasmática de cada substância, enquanto a excreção fracional de ureia foi determinada por intermédio da relação entre as depurações plasmáticas de ureia e de creatinina, multiplicada por 100.

4.8. Parâmetro sanguíneo

As coletas de sangue foram realizadas no 15º dia de cada período experimental por punção da veia jugular, anteriormente ao fornecimento das dietas no período da manhã. As amostras foram coletadas em tubos com vácuo de 10. Em seguida, as amostras foram centrifugadas ($2000 \times g$, 4°C durante 15 min) e o plasma sanguíneo foi colhido para outros ensaios bioquímicos. A concentração de ureia no sangue foi determinada pelo método colorimétrico utilizando kits comerciais (Laborlab®). A depuração ou depuração plasmática da creatinina e da uréia foram obtidas pela razão entre a excreção urinária durante 24 horas e a concentração plasmática de cada substância. A excreção fracionária de ureia foi determinada pela relação entre as depurações de ureia plasmática e creatinina. A análise de glicose, colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos no sangue foi realizada por meio de um método colorimétrico, utilizando kits comerciais (Labtest, Lagoa Santa, Brasil) e leituras realizadas por um analisador bioquímico semi-automático (BIO-200, Bioplus, Barueri, Brasil).

4.9. Comportamento ingestivo

O comportamento ingestivo dos animais foi mensurado no 21º dia de cada período experimental, por período de 24 horas monitorados por câmeras digitais com visão noturna (PRO-510 CAM-SWANN). Os parâmetros tempo de alimentação (min), ruminação e ócio, a porcentagem de tempo que o animal permaneceram ruminando deitado e em ócio deitado e a frequência de ingestão, ruminação e ócio, sendo a frequência determinada como o número de períodos de ingestão, ruminação e ócio.

As variáveis do comportamento ingestivo foram obtidos de acordo com Burger et al (2000). Os animais foram observados nos dias 20 de cada período durante 24 horas usando uma câmera digital com visão noturna (PRO-510 CAM, Swann, Victoria, Austrália). O tempo gasto com alimentação, mastigação, ruminação e ociosidade foi registrado a cada cinco minutos. O número de mastigações e o tempo gasto em ruminação de cada bolo alimentar foram avaliados usando um cronômetro digital. A eficiência alimentar, a eficiência de ruminação, o número de bolos ruminais por dia, o tempo de mastigação por dia e o número de mastigações foram estimados como descrito por Burger et al. (2000).

4.10. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + P_j + Q_k + S_l + E_m + S_l(E_m) + e_{ijklm}$$

onde: Y_{ijklm} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 8), P_j = efeito do período ($y = 1$ a 4), Q_k = efeito do quadrado ($k = 1$ to 2), S_l = efeito de silagem ($l = 1$ a 2), E_m = efeito de enzima ($m = 1$ a 2), $S_l(E_m)$ = efeito de interação e e_{ijklm} = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por: A_i e P_j . Os graus de liberdade eram corrigidos por DDFM= kr. Os dados obtidos eram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. Consumo e digestibilidade dos nutrientes

Os animais alimentados com silagem de milho apresentaram maior consumo ($P=0,001$) de MS, MO, PB, FDN, CNF e NDT em relação aos animais que foram alimentados com dietas a base de silagem de cana-de-açúcar.

A silagem de milho apresentou ser 30,1% ($P=0,001$) mais digestível para MS em relação à silagem de cana. Enquanto a adição de enzima às silagens, melhorou em 9,7% a digestibilidade de MS.

A digestibilidade da MO nas dietas com silagem de milho superou em 27,7% ($P=0,001$) a digestibilidade da MO em tratamentos com silagem de cana-de-açúcar. Os tratamentos com adição de enzima reduziram em 6,7% ($P=0,048$) a digestibilidade da MO em relação aos tratamentos com adição de enzima fibrolítica.

As dietas com silagem de milho apresentaram 18,3% ($P=0,004$) mais digestibilidade de PB em relação às dietas com silagem de cana-de-açúcar. Não houve efeito da adição de enzima sobre a digestibilidade da PB.

Houve efeito de interação para a digestibilidade de FDN, sendo que a digestibilidade desse componente na dieta SCE apresentou valores superiores ($P=0,006$) em relação às dietas SM e SME, porém não diferiu estatisticamente em relação à dieta SC. Não houve diferença significativa entre a dieta SM e SCE, entretanto, essas duas dietas apresentam diferença em relação à dieta SC. Os dados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes

Item	Dietas*				EPM†	Valor de P‡		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
Consumo (kg d ⁻¹)								
Matéria seca	5,49	7,74	4,83	7,55	0,33	0,001	0,307	0,564
Matéria orgânica	5,13	7,23	4,52	7,05	0,34	0,001	0,308	0,567
Proteína bruta	0,77	1,05	0,67	1,02	0,04	0,001	0,282	0,606
Fibra em detergente neutro	2,30	3,32	1,98	3,24	0,16	0,001	0,255	0,497
Carboidrato não fibroso	1,66	2,33	1,49	2,38	0,11	0,001	0,402	0,642
Nutrientes digestíveis totais	3,84	5,77	3,40	5,63	0,27	0,001	0,339	0,623
Consumo (% PV)								
Matéria seca	2,64	3,76	2,30	3,66	0,17	0,001	0,207	0,480
Fibra em detergente neutro	0,79	1,15	0,71	1,13	0,05	0,001	0,335	0,573
Digestibilidade aparente total								
Matéria seca								
Matéria orgânica	56,49	73,43	60,72	81,11	2,55	0,001	0,043	0,664
Proteína bruta	59,32	74,98	62,82	83,77	2,45	0,001	0,048	0,604
Fibra em detergente neutro	68,30	84,96	74,28	67,97 ^a	2,44	0,001	0,741	0,227
Extrato etéreo	38,24 ^c	59,05 ^{ab}	50,79 ^b	67,97 ^a	2,42	0,001	0,022	0,006
	87,99	89,18	86,63	88,67	2,41	0,445	0,526	0,542

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho+enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIFF.

5.2. Fermentação ruminal e síntese de proteína microbiana

A relação de propionato no perfil de ácidos graxos de cadeia curta na composição no líquido do rúmen foi de 19% nas dietas que continha silagem de milho (Tabela 3).

Tabela 3. Fermentação ruminal de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica

Item	Dieta*				SEM†	p-value‡		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	FIB	INT
pH	6,83	6,77	6,89	6,73	0,05	0,219	0,772	0,551
N-NH ₃ , mg/dL	19,60	19,04	21,49	19,08	1,93	0,535	0,684	0,697
<i>Ácidos graxos de cadeia curta (mmol)</i>								
Acetato	62,66	61,56	60,52	61,34	1,22	0,212	0,833	0,549
Propionato	19,82	22,78	19,34	23,78	0,21	0,012	0,537	0,434
Butirato	10,62	9,88	10,76	9,67	0,28	0,234	0,460	0,297
Isobutirato	0,37	0,31	0,38	0,35	0,02	0,271	0,484	0,656
Valerato	1,46	1,37	1,37	1,40	0,12	0,517	0,477	0,147
Isovalerato	0,53	0,41	0,49	0,55	0,03	0,680	0,471	0,144
Total	95,46	96,31	92,85	97,10	1,45	0,672	0,239	0,554
C2/C3	3,16	2,70	3,10	2,58	0,41	0,267	0,950	0,889

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho+enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIF.

O balanço energético na dieta com silagem de milho apresentou valor 77,6% ($P=0,008$) em relação ao tratamento com silagem de cana-de-açúcar (Tabela 4). Houve efeito de enzima nos valores de ácido úrico, sendo 37% ($P=0,034$) mais aparente nos tratamentos com adição de enzima.

Efeito de silagem e enzima foram encontrados nos teores de purinas totais sobre os tratamentos. Os tratamentos com silagem de milho apresentaram valores 69% ($P=0,043$) maior em relação aos tratamentos com silagem de cana-de-açúcar. Enquanto os tratamentos com adição de enzima apresentaram superioridade de 4% ($P=0,003$) quando comparados aos tratamentos sem adição da enzima fibrolítica.

Houve efeito significativo de silagem nos valores de purinas absorvidas, sendo os tratamentos com silagem de milho apresentando valor 74,3% ($P=0,004$) maior em relação aos tratamentos com silagem de cana-de-açúcar.

Os valores de nitrogênio e PB nos tratamentos com silagem de milho foram 74% ($P=0,003$) maiores que os tratamentos com silagem de cana-de-açúcar.

Tabela 4. Síntese de proteína microbiana de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica

Item	Diets experimentais				EPM	Valor de P		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
	<i>mmol/L</i>							
Alantoina	7,65	11,24	7,94	10,61	1,56	0,253	0,950	0,864
Ácido Úrico	0,60	0,83	0,87	0,67	0,10	0,940	0,794	0,290
Purinas totais	8,25	12,08	8,81	11,28	1,6	0,273	0,967	0,811
	<i>mmol/dia</i>							
Alantoina	117,83	207,14	118,81	213,32	2,10	0,008	0,955	0,967
Ácido Úrico	9,59	9,24	14,67	11,28	1,55	0,552	0,034	0,629
Purinas totais	127,42	216,39	133,48	224,60	3,09	0,043	0,003	0,241
Purinas abs	140,59	246,48	147,85	256,36	0,21	0,004	0,913	0,986
	<i>g/dia</i>							
Nitrogênio	102,22	179,20	107,49	186,39	3,62	0,003	0,913	0,986
Proteína bruta	638,85	1119,99	671,83	1164,91	4,03	0,003	0,913	0,986

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho+enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIFF.

5.3. Balanço de nitrogênio e balanço de energia

Houve efeito de silagem no balanço de nitrogênio, sendo das dietas com silagem de milho 43,3% ($P=0,001$) superior para consumo de nitrogênio à silagem de cana-de-açúcar (Tabela 5).

A excreção de N nas fezes foi maior nas dietas com silagem de cana-de-açúcar, apresentando valores superiores em 25,5% ($P=0,026$) em relação aos tratamentos com silagem de milho.

Efeito de interação entre as dietas SC, SM e SME ($P=0,034$) foi observado na excreção de N na urina diária. As dietas SC, SM e SME apresentaram os maiores valores de excreção dentre todas as dietas, porém não diferiram estatisticamente entre si. Entretanto, a dieta SCE apresentou o menor valor de excreção dentre os tratamentos.

O balanço de nitrogênio absorvido foi 60% ($P=0,003$) maior nas dietas contendo silagem de milho em relação às dietas contendo silagem de cana-de-açúcar. Enquanto as dietas sem adição de enzima apresentaram 6,8% ($P=0,012$) maior valor de balanço de nitrogênio quando comparados às dietas com adição de enzima fibrolítica.

Em relação ao nitrogênio retido, as dietas contendo silagem de cana-de-açúcar apresentaram valor 41,2% ($P=0,002$) maior em relação ao valor apresentado nas dietas contendo silagem de milho.

Os animais alimentados com silagem de cana-de-açúcar excretaram 54,6% (P=0,011) mais nitrogênio nas fezes em relação aos animais tratados com silagem de milho.

Houve diferença (P=0,004) entre as quatro dietas, onde a dieta SC apresentou maior porcentagem de nitrogênio excretado na urina em relação às dietas SM e SME.

O balanço de nitrogênio total no nitrogênio absorvido foi 28% (P=0,011) maior nas dietas contendo silagem de milho em relação às dietas contendo silagem de cana-de-açúcar.

As dietas contendo silagem de milho apresentaram maior porcentagem de nitrogênio retido. Entretanto, os valores de balanço de nitrogênio total no nitrogênio retido foram de 126% (P=0,039) maior nas dietas contendo silagem de milho do que nas dietas contendo silagem de cana-de-açúcar.

Tabela 5. Balanço de nitrogênio de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valores de P ³		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
	<i>Consumo (g/dia)</i>							
Nitrogenio	123,31	168,77	108,54	163,47	5,56	0,001	0,282	0,606
	<i>Excreção (g/dia)</i>							
Fezes	33,93	25,15	30,34	24,61	1,66	0,026	0,488	0,607
Urina	53,92 ^a	45,20 ^{ab}	36,84 ^c	52,11 ^a	13,59	0,766	0,645	0,034
	<i>Balanço (g/dia)</i>							
N-absorvido	89,36	143,62	78,19	138,86	5,21	0,003	0,012	0,453
N-retido	35,44	98,41	41,35	86,74	15,24	0,002	0,842	0,546
	<i>Excreção (% NT)</i>							
Fezes	31,68	15,03	37,18	16,22	1,08	0,011	0,611	0,743
Urina	43,53 ^a	28,36 ^b	39,86 ^{ab}	32,20 ^b	9,34	0,198	0,991	0,044
	<i>Balanço (% NT)</i>							
N-absorvido	68,31	84,96	62,81	83,77	1,08	0,011	0,611	0,743
N-retido	24,78	56,60	22,94	51,56	9,71	0,039	0,799	0,905

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho+enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIF.

Os animais alimentados com dieta de silagem de milho apresentaram maior consumo (P=0,001) de energia bruta, energia digestível, energia metabolizável, energia líquida de lactação e energia líquida de ganho em relação aos animais suplementados com a dieta à base de cana-de-açúcar (Tabela 6).

Em relação ao balanço de energia de ganho e a eficiência de energia líquida de ganho, os animais suplementados com dieta a base de silagem de milho apresentaram ter mais eficientes (P=0,001) do que os animais alimentados com dietas a base de silagem de cana-de-açúcar.

Tabela 6. Balanço energético de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica

Item	Dietas experimentais				EPM	Valor de P		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
	Consumo (Mcal/dia)							
Energia bruta	23,71	35,66	22,22	34,78	1,60	0,001	0,471	0,850
Energia digestível	16,93	25,47	15,87	24,84	1,14	0,001	0,467	0,866
Energia metabolizável	14,66	22,27	13,75	21,72	1,00	0,001	0,474	0,857
Energia líquida lactação	8,76	13,23	8,21	12,90	0,59	0,001	0,488	0,886
Energia líquida de ganho	6,10	10,12	5,75	9,87	0,47	0,001	0,507	0,915
	Produção (Mcal/dia)							
Energia de Manutenção	4,72	4,72	4,72	4,65	0,10	0,639	0,553	0,566
	Balanço (Mcal/dia)							
Energia de ganho	4,04	8,50	3,49	8,25	0,62	0,001	0,522	0,816
	Eficiência (%)							
ELG/CED	20,94	33,17	18,06	32,37	2,03	0,001	0,234	0,492

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIFF.

Comportamento

Os animais alimentados com dietas a base de silagem com adição de enzima apresentaram maior tempo de alimentação ($P=0,030$) em relação aos animais alimentados com dietas a base de silagem sem adição de enzima fibrolítica (Tabela 7). Entretanto, os animais que ingeriram dietas com adição de enzima menor tempo em ócio ($P=0,078$) e ócio em pé ($P=0,093$) em relação àqueles que não receberam a enzima fibrolítica na dieta.

O tempo que os animais permaneceram mastigando foi maior ($P=0,050$) nos animais que receberam silagem de cana-de-açúcar. Entretanto, o tempo que os animais permaneceram ruminando e ruminando deitado foi maior ($P=0,050$) nos animais que eram alimentados com dietas à base de silagem de milho.

Foi observado que o número de bolos ruminais e o tempo que esses bolos ruminais permaneceram no sistema foi maior ($P=0,011$) nos animais que receberam os tratamentos com silagem de cana-de-açúcar. Porém, o teor de MS e FDN nos bolos ruminais foi maior ($P=0,006$) nos animais alimentados com silagem de milho.

Os tratamentos sem adição de enzima fibrolítica na dieta apresentou aumentar a eficiência ($P=0,008$) de alimentação da MS.

Tabela 7. Comportamento dos animais

Item	Diets experimentais ¹				EPM ²	Valores de P ³		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
	<i>Tempo (min)</i>							
Alimentando	445,61	417,15	483,54	518,74	5,97	0,895	0,030	0,289
Mastigando	641,38	621,75	674,38	607,50	4,07	0,050	0,673	0,294
Ruminando	577,61	595,23	534,44	625,75	4,67	0,043	0,804	0,158
Ruminando pé	106,33	115,1	125,66	131,94	4,11	0,743	0,513	0,962
Ruminando deitado	474,02	484,54	406,04	489,38	513	0,050	0,280	0,213
Ócio	422,68	427,05	416,13	296,07	4,30	0,127	0,078	0,102
Ócio pé	217,15	237,56	207,47	158,73	4,55	0,579	0,093	0,184
Ócio deitado	198,09	189,11	216,09	137,72	3,89	0,132	0,597	0,278
	<i>Bolos ruminais</i>							
Numero	562,88	525,75	549,00	522,00	6,10	0,011	0,451	0,663
Tempo (seg)	62,00	50,50	62,87	52,50	1,69	0,008	0,433	0,493
Mastigação	51,73	53,77	53,2	51,7	0,65	0,840	0,845	0,243
MS (gramas)	11,41	13,53	11,23	13,34	0,36	0,006	0,615	0,536
FDN (gramas)	4,79	5,91	4,70	5,71	0,16	0,004	0,623	0,543
	<i>Eficiência de alimentação (gMS/h)</i>							
MS	789,92	801,83	917,61	936,6	5,17	0,544	0,013	0,564
FDN	331,96	343,83	387,11	399,43	3,88	0,754	0,067	0,432
	<i>Eficiência de matigação (gMS/h)</i>							
MS	552,39	608,88	622,39	690,07	4,23	0,345	0,008	0,455
FDN	231,47	259,29	261,92	296,09	3,78	0,443	0,144	0,461
	<i>Eficiência de ruminação (gMS/h)</i>							
MS	677,64	640,43	740,16	672,13	4,99	0,545	0,638	0,876
FDN	285,29	271,9	310,01	287,67	3,54	0,619	0,688	0,906

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho+enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIFF.

5.4. Excreção de compostos nitrogenados

Houve efeito de adição de enzima sobre as concentrações de ureia e nitrogênio ureico no sangue, onde os tratamentos sem adição de enzima apresentaram valores dos dois componentes de aproximadamente 13% maior ($P=0,045$) em relação aos tratamentos com adição de enzima fibrolítica (Tabela 8).

A concentração de creatinina no sangue dos animais alimentados com silagem de milho foi 6,7% ($P=0,04$) superior a concentração de creatinina no sangue dos animais suplementados com silagem de cana-de-açúcar.

A excreção de ureia pelos animais suplementados com os tratamentos sem adição de enzima superou a excreção de ureia dos animais suplementados com adição da enzima fibrolítica em 64,3% ($P=0,029$).

Os animais alimentados com dietas sem adição de enzima apresentaram valores clearance de ureia cerca de 60% (P=0,001) maior em relação aos animais que receberam dietas com adição da enzima fibrolítica.

Houve efeito de utilização de silagem e adição de enzima sobre os resultados de excreção fracional da ureia, onde os tratamentos contendo silagem de cana-de-açúcar apresentaram valor 44% (P=0,044) superior em relação aos tratamentos contendo silagem de milho. Entretanto, os animais que eram alimentados com silagens sem adição de enzima, apresentaram excreção fracional de ureia cerca de 51% (P=0,012) maior em relação aos animais que receberam dietas com adição de enzima fibrolítica.

Tabela 8. Excreção de compostos nitrogenados de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valores de P ³		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
<i>Urina (mg/dL)</i>								
Ureia	141,00	145,3	130,5	122,50	2,59	0,432	0,045	0,627
Creatinina	1,83	2,71	1,90	1,84	0,36	0,286	0,307	0,226
N-Ureico	65,70	67,74	60,81	57,08	1,21	0,432	0,045	0,627
N- Creatinina	0,68	1,00	0,70	0,68	0,13	0,286	0,307	0,226
<i>Sangue (mg/dL)</i>								
Ureia	61,75	65,87	58,87	60,75	2,30	0,497	0,369	0,797
Creatinina	0,53	0,55	0,50	0,55	0,04	0,540	0,712	0,712
N-Ureico	28,77	30,69	27,43	28,30	1,07	0,497	0,369	0,797
N- Creatinina	0,19	0,18	0,20	0,20	0,01	0,540	0,712	0,712
<i>Excreção (mg/kg PV)</i>								
Ureia	1015,64	862,84	660,62	482,44	27,11	0,764	0,029	0,652
Creatinina	29,98	29,97	29,99	30,00	3,67	0,904	0,375	0,719
<i>Clearance (24 horas)</i>								
Ureia	19,28	12,44	11,89	7,94	1,11	0,539	0,001	0,868
Creatinina	64,77	56,28	68,18	64,24	2,76	0,570	0,603	0,834
<i>Excreção fracional (%)</i>								
Ureia	37,85	25,68	18,76	13,51	1,96	0,044	0,012	0,702

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho+enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIFF.

5.5. Parâmetros sanguíneos

Houve efeito de silagem sobre o teor de Colesterol-HDL (Tabela 9). Os tratamentos contendo silagem de cana-de-açúcar apresentou teor de colesterol-HDL 19% superior em relação aos tratamentos contendo silagem de milho.

Tabela 9. Teores dos componentes sanguíneos de novilhas leiteiras alimentadas com enzima fibrolítica

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valores de P ³		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
	<i>mg/dL</i>							
Glicose	99,37	93,25	95,87	93,25	2,82	0,460	0,766	0,767
Colesterol total	175,2	161,37	183,50	163,88	7,07	0,153	0,634	0,798
Triglicérides	155,50	176,50	141,50	146,25	4,83	0,312	0,094	0,519
Colesterol-HDL	51,50	41,75	48,75	42,62	1,60	0,012	0,739	0,522
Colesterol-LDL	102,27	84,32	106,45	92,00	7,25	0,137	0,571	0,866
Colesterol-VLDL	31,10	35,30	28,30	29,25	2,01	0,312	0,094	0,519
Ureia	61,75	65,87	58,87	60,75	2,30	0,497	0,369	0,797
Nitrogênio ureico	28,77	30,69	27,43	28,30	1,07	0,497	0,369	0,797

* Silagem de cana (SC); Silagem de milho (SM); Silagem de cana + enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SCE); Silagem de milho+enzima (atividade de Xilanase 600 UI/g) (SME).

† Erro padrão da média.

‡ Efeito de silagem (SIL), enzima (ENZ) e interação da SIL e ENZ (INT).

^{a-c} Valores na mesma linha com diferentes letras subscritas diferem significativamente em $P \leq 0,05$ de acordo com PDIFF.

6. DISCUSSÃO

A diminuição da ingestão de nutrientes de novilhas alimentadas com dietas à base de silagem de cana-de-açúcar está relacionada à menor digestibilidade da MS comparada aos animais alimentados com silagem a base de silagem de milho.

Trabalhos têm evidenciado diminuição no consumo de matéria seca com o aumento da participação da cana-de-açúcar nas dietas de novilhas e vacas em lactação (Pires et al., 1999; Correa et al., 2003; Mendonça et al., 2004), o que pode ser explicado pela maior quantidade de fibra em detergente neutro indigestível e pela menor taxa de digestão da fração fibrosa potencialmente digestível, que aumentam o tempo de permanência da fibra não digerida no rúmen, reduzindo a taxa de passagem pelo trato gastrointestinal e interferindo negativamente no consumo de matéria seca (Allen, 2000; Landell et al., 2002).

A baixa digestibilidade de nutrientes, especialmente de fibras, estimula os receptores de dilatação do rúmen, que enviam sinais aos centros de saciedade do cérebro, fazendo com que ocorra o encerramento da alimentação do animal e, conseqüentemente, a redução do consumo de ração (Allen, 2000). Segundo Van Soest (1994), a lignina é o principal componente da parede celular que limita a digestão dos carboidratos estruturais no rúmen. Assim, elevados teores desse composto podem limitar o uso da cana-de-açúcar, refletindo em menor digestibilidade da fração fibrosa. O efeito inibitório sobre a ingestão de MS na produção de cana-de-açúcar para

bovinos é frequentemente descrito na literatura (Andrade e Pereira, 1999; Corrêa et al., 2003; Rotta et al., 2014).

O fornecimento de enzima aumentou a digestibilidade da MS em ambas as dietas e o aumento da digestibilidade da FDN foi mais evidente quando a enzima foi fornecida para as novilhas alimentadas com silagem de cana-de-açúcar. Pesquisas têm mostrado que a suplementação com enzimas exógenas promove o aumento da atividade da celulase e xilanase no rúmen (Hristov et al., 2000; Morgavi et al., 2000). Krause et al. (1998) verificaram que a adição de enzima fibrolítica à dieta alterou a composição química do volumoso, reduzindo os teores de FDN e FDA. A adição de enzima fibrolítica pode aumentar a atividade enzimática do rúmen e aumentar a capacidade de hidrólise ruminal, melhorando assim a digestibilidade total da dieta ao invés de limitar o alvo da enzima a um componente específico (Beauchemin et al., 1999). Além disso, a enzima fibrolítica facilita a degradação da proteína ligada a parede celular, aumentando a digestibilidade da PB. Lewis et al. (1996) observaram aumento na digestibilidade total da matéria seca e fibra detergente neutro e ácido, em bovinos recebendo dieta baseada em volumosos tratada com enzima fibrolíticas. As dietas a base de silagem de cana-de-açúcar demonstraram menor digestibilidade ruminal de FDN quando comparadas as dietas baseadas em silagem de milho (Rotta et al., 2014).

A adição de enzima aumentou o tempo gasto com a alimentação e, conseqüentemente, reduziu o tempo de ociosidade dos animais. He et al. (2015) encontraram maior frequência de alimentação quando a enzima fibrolítica eram adicionadas a dietas de novilhas contendo grãos secos. Esses autores ressaltaram que a maior frequência de tempo de cocho é mais importante para o desempenho animal do que o tempo total de alimentação. No entanto, no presente estudo, a enzima não teve efeito sobre a ingestão de alimentos.

A enzima, além de aumentar a digestibilidade da MS, aumenta a frequência de alimentação, o que diminui a variação no processo digestivo. Isso resulta em maior eficiência de alimentação e mastigação. Os animais alimentados com silagem de cana-de-açúcar apresentaram menor tempo de mastigação e maior tempo de ruminação, especialmente deitado em relação aos alimentados com silagem de milho. Pode-se associar o maior tempo de mastigação de animais alimentados com silagem de milho com o maior consumo de ração em relação àqueles alimentados com silagem de cana-de-açúcar.

Os resultados da utilização de energia e nitrogênio por novilhas estão relacionados com a ingestão de nutrientes e a digestibilidade. Os animais alimentados com dietas contendo silagem de milho tiveram maior consumo e digestibilidade de MS e, conseqüentemente,

apresentaram maior consumo de energia e equilíbrio energético líquido do que as novilhas alimentadas com silagem de cana-de-açúcar. Embora a ingestão de nitrogênio tenha sido menor, o nitrogênio excretado nas fezes foi maior nos animais alimentados com dietas contendo silagem de cana-de-açúcar, em comparação àqueles alimentados com silagem de milho, devido a menor digestibilidade de PB observada em animais alimentados com silagem de cana-de-açúcar. O principal fator para as perdas de nitrogênio nos bovinos é a ingestão de nitrogênio, o que afetará particularmente a produção de nitrogênio urinário (Huhtanen et al., 2008). Os menores valores de ingestão de nitrogênio e nitrogênio urinário eram observados em novilhas alimentadas com silagem de cana-de-açúcar com adição de enzima, enquanto os demais tratamentos mostraram ingestão de nitrogênio e produção urinária similares.

A enzima também diminuiu a excreção de ureia urinária, que resultou em menor taxa de excreção fracionária. Embora a enzima tenha apresentado efeito sobre a ingestão de nitrogênio e digestibilidade, houve diminuição de nitrogênio absorvido em tratamentos com a adição de enzima fibrolítica, que está relacionada com a excreção de ureia urinária. A adição de enzima fibrolítica diminuiu a excreção urinária de nitrogênio dos animais alimentados com silagem de cana-de-açúcar em relação àqueles alimentados com silagem de milho. Os animais alimentados com silagem de cana-de-açúcar apresentaram uma síntese protéica microbiana mais baixa do que aqueles alimentados com silagem de milho. De acordo com o NRC (2001), a proteína microbiana ruminal e a proteína de ganho têm perfil de aminoácidos semelhante e, além disso, os animais alimentados com silagem de cana-de-açúcar apresentaram maior consumo de energia líquida, o que provavelmente resultou em aumento no ganho diário e aumento da necessidade de aminoácidos para ganho corporal.

Embora os efeitos da silagem e enzima tenham sido observados na digestibilidade dos nutrientes, observamos efeitos de tratamento na fermentação ruminal. A adição de enzima fibrolítica em silagens pode aumentar a razão entre acetato e propionato caracterizando condições mais favoráveis para a digestão ruminal (Loures et al., 2005). O aumento na produção de propionato em novilhas alimentadas com silagem de milho pode estar associado ao alto teor de amido da silagem de milho em comparação à silagem de cana-de-açúcar, além da maior ingestão de novilhas alimentadas com dietas contendo silagem de milho em comparação com aquelas alimentadas com silagem de cana-de-açúcar.

Os experimentos contendo enzima fibrolítica, a maior efetividade desse complexo é caracterizada por redução da fração fibrosa e, conseqüentemente, aumento da digestibilidade

da fibra da forragem (Kung Jr. et al., 2000). As dietas contendo silagem de milho melhoraram a síntese proteica microbiana devido à maior disponibilidade de nutrientes para fermentação ruminal, já que as novilhas alimentadas com dietas a base de milho apresentaram maior consumo de nutrientes e digestibilidade em comparação com aquelas alimentadas com silagem de cana-de-açúcar.

7. CONCLUSÃO

As enzimas fibrolíticas aumentam a digestibilidade da FDN em novilhas leiteiras alimentadas com silagem de cana-de-açúcar ou milho, apresentando resultados semelhantes de FDN em novilhas leiteiras alimentadas com silagem de milho sem suplemento enzimático. O produto enzimático alterou o comportamento ingestivo das vacas, aumentando a eficiência da mastigação e da alimentação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1598-1624, 2000.

ALQAISI, O; STEGLICH, J; HEMME, T (2011). Feed intake and nutrient use efficiency in dairy farming systems. In: IFCN Dairy Report 2011, Torsten Hemme editor, p 176-177. Published by IFCN Dairy Research Center, Schauenburgerstrate, Germany.

BARROS, G.S.A. de C.; GALAN, V.B.; GUIMARÃES, V. di A.; BACCHI, M.R.P. **Sistema agroindustrial do leite no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 172p.

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

BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P. et al. Use of exogenous fibrolytic enzyme to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.81, E suppl. 2, p.E37-E47, 2002.

BEAUCHEMIN, K.A.; YANG, W.Z.; RODE, L.M. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.378390, 1999.

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

BUSS, A. E; DUARTE, V. N. (2011). Estudo da viabilidade econômica da produção leiteira numa fazenda no Mato Grosso do Sul. **Custos e @gronegocio on line** - v. 6, n. 2: 110-130.

CHERNEY, D. J. R.; CHERNEY, J. H.; CHASE, L. E. (2009). Using forages in dairy rations: are we moving forward? Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, 71st Meeting, p. 203-209.

CHESSON, A. Feed enzyme. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, p.65-79, 1993.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D., CHIZZOTTI, F.H.M., CAMPOS, J.M.S., MARCONDES, M.I., FONSECA, M.A. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.35, n.4, p.1813-1821, 2006. Supl.

COLOMBATTO, D.; MOULD, F.L.; BHAT, M.K.; MORGAVI, D.P.; BEAUCHEMIN, K.A.; OWEN, E. Influence of fibrolytic enzyme on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose and xylan by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v.81, p.1040-1050, 2003

CORREA, C.E.S.; PEREIRA, M.N.; OLIVEIRA, S.G. et al. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. *Scientia Agricola*, v.60, n.4, p.621-529, 2003.

COSTA, M.G.; CAMPOS, J.M.S.; FILHO, S.C. et al. Desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com diferentes proporções de cana-de-açúcar e concentrado ou silagem de milho na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.2437-2445, 2005.

DADO, R.G.; ALLEN, M.S. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.1, p.118-133, 1995.

DAMASCENO, J. C.; BACARI JUNIOR, F.; TARGA, L. A. Respostas comportamentais de vacas holandesas, com acesso a sombra constante ou limitada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 709-715. 1999

EUN, J.S. & BEAUCHEMIN, K.A. Enhancing in vitro degradation of alfalfa hay and corn silage using feed enzyme. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p.2839-2851, 2007.

FENG, P.; HUNT, C.W.; PRITCHARD, G.T. et al. Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vitro* degradation and *in vivo* digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, p.1349-1357, 1996.

FERREIRA, A.H. **Eficiência de sistemas de produção de leite**: uma aplicação da análise envoltória de dados na tomada de decisão. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002.

GOMES, S.T. **Economia da produção leiteira**. Belo Horizonte: Itambé, 2000. 132p.

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

JOCHIMS, F.; PIRES, C.C.; GRIEBLER, L.; BOLZAN, M.S.; DIAS, F.D. E GALVANI, D.B. 2010. Comportamento ingestivo e consumo de forragem por cordeiras em pastagem de milho recebendo ou não suplemento. **Rev Bras Zootecn**, 39: 572-581

JUNQUEIRA, M.C. **Aditivos químicos e inoculantes microbianos em silagens de cana-de-açúcar: perdas na conservação, estabilidade aeróbia e o desempenho de animais**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2006.

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

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

LEWIS, G. E.; HUNT, C. W.; SANCHEZ. Effect of directfed fibrolytic enzyme on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 12, p. 3020-3028, 1996.

LEWIS, G.E.; SANCHEZ, W.K.; HUNT, C.W. et al. Effect of fibrolytic enzyme on lactational performance in mid-lactation Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v.73, p.341, 1995

LOPES, M. A. et al. Custos de produção de fêmeas bovinas da raça holandesa nas fazendas de cria e recria em um sistema de produção de leite no sul de Minas Gerais. **Boletim de Indústria Animal**. Nova Odessa, v.67, n.1, p.09-15, 2010.

LOURES, D.R.S. **Enzima fibrolítica e emurchecimento no controle de perdas da ensilagem na digestão de nutrientes em bovinos alimentados com rações contendo silagem de capim tanzânia**. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, - USP, para obtenção do título de Doutor em Agronomia, área de concentração: **Ciência Animal e Pastagens**. pp. 146, 2004.

LOURES, D.R.S et al. Efeito de enzima fibrolítica e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia.*, Viçosa , v. 34, n. 3, June 2005.

MAGALHÃES, A.L.R.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, MARTINS, A. S.; VIEIRA, P. F.; BERCHIELLI, T. T.; PRADO, I. N.; LEMPP, B.; PAULA, M. C. Degradabilidade *in situ* e observações microscópicas de volumosos em bovinos suplementados com enzima fibrolítica exógenas. **R. Bras. Zootec.**, v.36, n.6, p.1927-1936, 2007.

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

McALLISTER, T. A.; OOSTING, S. J.; POPP, J. D. et al. Effect of exogenous enzyme on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, p.353-360, 1999.

MENDES NETO, J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade, desempenho, desenvolvimento ponderal e economicidade de dietas com polpa cítrica em substituição ao feno de capim-tifton 85 para novilhas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.626-634, 2007.

MENDONÇA, S.S.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Comportamento ingestivo de vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar ou silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.723-728, 2004.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society Agronomy, 1994. p.450-493.

MERTENS, D.R. **Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations and estimate the net energy content of forages**. Ithaca: Cornell University, 1983. p.60-69.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Quebec, Canadá. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. p.40-43.

MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; NSEREKO, V. L. et al. Synergy between ruminal fibrolytic enzyme and enzyme from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1310-1321, 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed.Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 408p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**, 6th rev. ed. Update. Washington: National Academy Press, 1989. 363p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2001. **Nutrient Requeriments of Dairy Cattle**. Seventh Revised Edition. Washington, D.C. National Academy Press.

NEWBOLD, J. Proposed mechanisms for enzyme as modifiers of ruminal fermentation. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 16., 1997, Gainesville. 1997. p.3-17.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Silagens de cana-de-açúcar para bovinos leiteiros: aspectos agronômicos e nutricionais. In: VISÃO TÉCNICA E ECONÔMICA DA PRODUÇÃO

LEITEIRA, 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2005. p.193-218.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Silagens de cana-de-açúcar para bovinos leiteiros: aspectos agronômicos e nutricionais. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA: VISÃO TÉCNICA E ECONÔMICA DA PRODUÇÃO LEITEIRA. 5., 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005. p.193-218.

ORTOLANI, E.L. Considerações técnicas sobre o uso da sonda esofágica na colheita do suco de rúmen de bovinos para mensuração do pH. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v.33, n.2, p.269-275, 1981.

PEREIRA, M.L.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES,

PRESTON, T.R. Nutritional limitations associated with the feeding of tropical forages. **Journal of Animal Science**, v.54, n.4, p.877-884, 1982.

PIRES, A.V.; SIMAS, J.M.C.; ROCHA, M.H.M. et al. Efeito da substituição da silagem de milho pela cana-de-açúcar no consumo de matéria seca, parâmetros ruminais, produção e composição do leite de vacas holandesas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999. (CD-ROM).

QUEIROZ, R.C.; BERGAMASCHINE, A.F.; BASTOS, J.F.P.; SANTOS, P.C.; LEMOS, G.C. Uso de Produto à base de enzima na dieta de bovinos: Digestibilidade dos nutrientes e desempenho em confinamento. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.33, n.6, p.1548-1556, 2004.

SCHAFHÄUSER JR., J. Desenvolvimento da glândula mamária durante a recria e sua influência no potencial produtivo de fêmeas leiteiras. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 13, n. 1, p. 128-148. 2006

SCHINGOETHE, D.J.; STEGEMAN, G.A.; TREACHER, R.J. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 5, p. 996-1003, 1999.

SEJRSEN, K. e PURUP, S. Influence of prepubertal feeding level on milk potential of dairy heifers: a review. **Journal Animal Science**. 1997. 75: 828-835.

SILVA, S.C. A cana-de-açúcar como alimento volumoso suplementar. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (Eds.) **Volumosos para bovinos**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1993. p.59-74.

SORIO, A. **Estudo de viabilidade técnica e econômica destinado à implantação do Parque produtivo nacional de aditivos da indústria de alimentação de animais de produção**. Passo Fundo, Ed Méritos, 2012, 300 p

SOUSA, D.P. **Desempenho, síntese de proteína microbiana e comportamento ingestivo de vacas leiteiras alimentadas com cana-de-açúcar e caroço de algodão ou silagem de milho**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 79p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.