



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA

**Suplementação de enzimas amilolíticas para ovinos recebendo silagem de grãos úmidos de milho: consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio.**

**Acadêmico: Euclides Amancio dos Santos Junior**

Dourados - MS

Agosto - 2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA

i

**Suplementação de enzimas amilolíticas para ovinos recebendo silagem de grãos úmidos de milho: consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio**

**Acadêmico: Euclides Amancio dos Santos Junior**  
**Orientador: Euclides Reuter de Oliveira**

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do grau de bacharel em Zootecnia

Dourados - MS

Agosto – 2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

S237s Santos Junior, Euclides Amancio Dos

Suplementação de enzimas amilolíticas para ovinos recebendo silagem de grãos úmidos de milho reidratado: Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio. / Euclides Amancio Dos Santos Junior --

Dourados: UFGD, 2017.

34f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Euclides Reuter de Oliveira

TCC (Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias,  
Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. nutrição. 2. Alimento. 3. Digestão. I. Título.

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

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

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TITULO:** Suplementação de enzimas amilolíticas para ovinos recebendo silagem de grãos úmidos de milho reidratado: Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio.

**AUTOR:** Euclides Amancio Dos Santos Junior  
**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira

Aprovado como parte das exigências para a obtenção do grau de bacharel em ZOOTECNIA pela comissão examinadora.

Euclides Reuter de Oliveira

Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira  
(Orientador)

Jefferson Rodrigues Gandra

Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

Andrea Maria Araújo Gabriel

Prof. Dr. Andrea Maria Araújo Gabriel

Data de realização: 28 de agosto de 2017

Leonardo de Seno  
Prof. Dr. Leonardo de Oliveira Seno  
Presidente da comissão do TCC-Zootecnia

## OFERECIMENTOS

*Primeiramente à Deus por sua proteção divina, fé inabalável e força para seguir em frente mesmo diante das adversidades que encontramos todos os dias de nossa caminhada.*

*Ao curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados e ao professores nos quais me inspirei a estudar e me tornar um profissional.*

*A minha família que sempre me apoiou de todas as formas para eu realizar o sonho de me tornar um Zootecnista. em especial ao meu pai Euclides Amancio dos Santos pelos conselhos e ensinamentos que me tornaram o homem que sou hoje e a minha mãe Marly Ramos da Silva pelo amor e dedicação sem igual a mim e a meus irmãos.*

*A meus colegas e amigos os quais me ajudaram a passar por essa fase tão importante de nossas vidas. Fase essa que está acabando mas espero levar essas amizades para o restante da minha vida.*

*Ofereço e dedico esta conquista a todos que me apoiam.*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados, a Faculdade de Ciências Agrárias, ao curso de Zootecnia pela oportunidade de realização deste.

Ao meu orientador Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira ao qual tive a oportunidade de trabalhar durante toda minha graduação, um profissional que me passou os valores e as responsabilidades inerentes a profissão, que através se seus puxões de orelha me ensinou que para haver crescimento pessoal e profissional devemos sair de nossa zona de conforto, a tudo isso serei eternamente grato ao senhor.

A minha família que sempre me apoiou desde o início nessa jornada e mesmo com todas as dificuldades que passamos, especialmente nos primeiros anos pelas dificuldades financeiras que atravessávamos me davam força para prosseguir e que a vitória viria um dia e hoje estou realizando o sonho de me formar graças a força e determinação de meus pais.

A meu pai Euclides Amancio dos Santos ao qual serei eternamente grato por ter me passado os valores de um homem honrado e de palavra, ao qual tenho o maior orgulho de dizer que sou filho, que sempre priorizou a educação minha e de meus irmãos, que certa vez quando soube que eu estava bagunçando na escola me levou pra ir buscar pedras para aterrarmos o mangueiro e lá com suas palavras e um pá me ensinou o lado duro da vida e que a educação é a chave para buscarmos um futuro melhor, nunca vou me esquecer desse dia, pois a partir de então meus pais não receberam mais nenhuma notificação ruim em relação a mim e hoje estou realizando meu sonho de me formar em Zootecnia.

A minha mãe Marly Ramos da Silva por todo amor e carinho que recebo e sempre recebi, uma mulher de fibra que admiro muito, que para que eu pudesse continuar minha graduação se esforçava fazendo seus doces para me manter na universidade enquanto eu não conseguisse uma bolsa de estudos. Agora quero poder retribuir todo esforço que minha mãe e meu pai fizeram para eu conseguir chegar ate aqui. Sei que a luta vai ser difícil mas também sei que posso contar com as pessoas que mais amo e admiro nesse mundo, meus pais.

A meus amigos aos quais também me ajudaram muito durante esse período de graduação, a toda minha turma com os quais tive a honra de dividir a sala de aula e adquirir conhecimento, mas em especial a meus irmãos de coração Bruno Gomes, Gustavo Porangaba e Raquel Tenório.

Aos professores do curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, por passarem os ensinamentos necessários para a minha formação;

A todos que ajudaram direta ou indiretamente a realização deste trabalho meus sinceros agradecimentos.

**SUMÁRIO**

1 – INTRODUÇÃO.....	10
2.1 – <i>Silagem de grãos úmidos</i> .....	11
2.2 – <i>Vantagens</i> .....	12
2.3 – <i>Desvantagens</i> .....	13
2.4 – <i>Valor nutricional</i> .....	14
2.5 - <i>Reidratação</i> .....	16
2.6 - <i>Enzimas na alimentação de ruminantes</i> .....	17
2.7 - <i>Amilases</i> .....	18
2.8 - <i>Digestibilidade do amido</i> .....	20
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5 – CONCLUSÃO.....	28
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Consumo de matéria seca e nutrientes.....	26
Tabela 2 –Coeficiente de digestibilidade.....	27
Tabela 3 –Balanço de nitrogênio.....	28

## **Suplementação de enzimas amilolíticas para ovinos recebendo silagem de grãos úmidos de milho: Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar o consumo de matéria seca e nutrientes e digestibilidade aparente total de acordo as dietas experimentais de ovinos da raça Santa Inês, suplementadas com enzimas amilolíticas (alfa-amilase e glucanase) silagem de grãos úmidos milho, feno e mistura proteica. Foram utilizadas 6 ovinos da raça Santa Inês. Os animais foram divididos aleatoriamente em gaiolas metabólicas individuais, foi utilizado um delineamento em quadrado latino (3x3) repetido no tempo, considerando-se 3 tratamentos e 3 períodos experimentais, onde será avaliado a resposta das enzimas aplicadas a silagem de grãos úmidos. O período experimental foi de 16 dias sendo que 12 para a adaptação das dietas experimentais e 4 para a colheita de dados. As dietas experimentais foram: 1- Silagem de grãos úmidos de milho CON sem adição de enzimas+ feno+ mistura proteica; 2- Silagem grãos úmidos de milho contendo enzima AMG+ feno+ mistura proteica e 3- Silagem grãos úmidos de milho contendo enzima LYS+ feno triturado+ mistura proteica. As dietas experimentais foram formuladas contendo uma relação volumoso:concentrado de 20:80. A suplementação com enzima amilolíticas (AMG e LYS) influenciou o consumo de matéria seca ( $P<0,05$ ) em relação ao tratamento CON. A enzima celulolítica (AMG e LYS) aumentou( $P<0,05$ ) a digestibilidade da matéria seca, orgânica, proteína bruta. Os tratamentos enzimáticos apresentaram resultados significativamente maiores quanto ao consumo de matéria seca, amido e proteína, como também uma maior digestibilidade também da matéria seca, amido e proteína.

**Palavras-chave:** enzima, consumo, digestibilidade

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the intake of dry matter and nutrients and total apparent digestibility according to the experimental diets of Santa Inês sheep, supplemented with amylolytic enzymes (alpha-amylase and glucanase), corn grain, hay and protein mixture. Six Santa Inês sheep were used. The animals were randomly divided into individual metabolic cages, using a 3x3 Latin square design repeated over time, considering 3 treatments and 3 experimental periods, where the response of the enzymes applied to wet grain silage will be evaluated. The experimental period was 16 days, 12 for the adaptation of the experimental diets and 4 for the data collection. Experimental diets were: 1- Condiment corn silage without addition of enzymes + hay + protein mixture; 2- Silage wet corn grains containing enzyme AMG + hay + protein mix and 3- Silage wet corn grains containing enzyme LYS + comminuted hay + protein mixture. Experimental diets were formulated containing a voluminous: concentrate ratio of 20:80. Amylolytic enzyme supplementation (AMG and LYS) influenced the dry matter intake ( $P < 0.05$ ) in relation to the CON treatment. The cellulolytic enzyme (AMG and LYS) increased ( $P < 0.05$ ) the digestibility of dry matter, organic matter, crude protein. The enzymatic treatments showed significantly higher results regarding dry matter, starch and protein consumption, as well as a higher digestibility of dry matter, starch and protein.

**Keywords:** Enzyme, consumption, digestibility

## 1 – INTRODUÇÃO

A silagem de grãos úmidos é sem dúvida nenhuma uma ótima alternativa tanto para pequenos, médios ou grandes produtores para o armazenamento de grãos nas propriedades, essa técnica possibilita uma diminuição dos custos quando comparada ao milho seco (SILVA et al., 2006).

Uma fato interessante sobre as silagens de grãos úmidos são que elas apresentam uma alta quantidade de ácido láctico durante a fermentação, o que a torna menos susceptíveis a deterioração após sua abertura (BERNARDES et al., 2012).

No brasil o milho é uma cultura que permite que sejam realizadas duas sagras anuais, sendo que uma é denominada de safra de verão e a safra posterior denominada de safrinha. A maior safra é a de verão, sendo que a região Sul é a principal produtora seguido pela região Centro-Oeste.

O cultivo de milho no brasil vem sendo bastante impulsionado, isso se deve principalmente ao avanço dos preços no mercado externo, fato que está diretamente ligado a prática dos EUA que são os maiores produtores e exportadores mundiais destinarem boa parte de sua produção para a produção de etanol.

Costa et al. (1999) e Jobim et al. (2001) em diversos trabalhos relatam que principalmente em trabalhos realizados nos EUA que a silagem de grãos úmidos aponta várias vantagens zootécnicas e também econômicas quando utilizadas na alimentação de ruminantes. Outro ponto interessante é que foram observadas maiores taxas de digestibilidade ruminal quando comparado o grão seco e a silagem de grãos úmidos e também um menor custo de produção.

O trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da adição de enzimas exógenas amilolíticas sobre o consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio de ovinos alimentados com dieta altamente concentrada.

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Silagem de grãos úmidos

Segundo a literatura os estudos e desenvolvimento das técnicas de silagem de grão úmido ocorreram primeiramente nos EUA durante os anos 50, e então por volta dos anos 80 essa técnica chegava ao Brasil, e se tornava rotina nos confinamentos de gado de corte pelo país. No Brasil, a técnica de silagem de grãos foi introduzida somente a partir de 1981 na região de Castro (PR), por alguns criadores de suínos que logo depois, empregaram a mesma na alimentação de seus bovinos de leite e corte (COSTA et al., 2004). Porém, só a partir dos anos 90 é que a silagem de grão úmido, utilizada na alimentação de bovinos teve aumento em seu consumo (JOBIM et al., 2003).

A silagem de grãos úmidos consiste basicamente no armazenamento de grãos colhidos logo após a maturação fisiológica do milho ou algum outro cereal, com teor de umidade de 25 a 35%, podendo variar de acordo com a umidade no momento de ensilar. Esse processo de maturação fisiológica ocorre após a polinização, onde as trocas de nutrientes, entre a planta e grãos param. Nessa fase, que chamamos de maturação, os grãos apresentam teores máximos de amido e umidade. A técnica segue os mesmos princípios adotados para ensilagem convencional (OLIVEIRA et al., 2010).

Para a obtenção de uma silagem de qualidade, o teor de umidade do grão no momento da colheita deve ser de 30 a 35%, considerado o ideal o mínimo de 26 e máximo de 40%, pois em umidade superior a 40% a quantidade de água em quantidade excessiva no grão, interfere na maturação fisiológica resultando na consequente perda de matéria seca pelo material, e a fermentação excessiva durante o processo leva a uma grande perda de energia durante a estocagem do produto (LEH, 2001).

Segundo (Leh,2001) diz que umidade abaixo de 30 a 35% o grão perde de 1 a 2 pontos percentuais por dia de água, através da evaporação para o ambiente, em virtude de 3 a 5 dias pode ultrapassar o ponto ideal de colheita ou maturação fisiológica, este momento se caracteriza quando cessa a

translocação de nutrientes da planta para o grão, momento que pode ser observado a camada preta na base do grão, caracterizando a maturação fisiológica do grão.

Um dos principais problemas da técnica de ensilagem de grãos úmidos é sem dúvida, o ponto de colheita dos grãos, pois os mesmos podem rapidamente passar do ponto ideal para a confecção de um silagem de qualidade, sendo necessário que haja uma grande rapidez na retirada o grão do campo, o seu devido processamento, compactação e vedação do silo, para que se evite perdas do material. Pois o intervalo para a colheita do grãos é relativamente pequeno, o que pode levar a perdas na qualidade da silagem.

Um fato sobre a silagem de grãos úmidos é que ele vem sendo utilizada, tanto em pequenas, quanto em grandes propriedades para a conservação de cereais para a alimentação animal, sendo que ela pode melhorar tanto a qualidade nutricional dos alimentos, como também pode reduzir consideravelmente o grau de infestação de microorganismos indesejados devido a sua conservação ser baseada na grande queda no pH do meio.

## **2.2 Vantagens**

As vantagens atribuídas a silagem de grãos úmidos são amplamente discutidas na literatura nacional, por diversos autores (Kramer e Voorluys, 1991), (Jobim et al., 1996), (Jobim et al., 1997), (Costa et al., 1999), (Képlin, 2000), (Jobim et al., 2001) e entre as principais vantagens apresentadas por esses autores podemos citar: Uma antecipação da colheita dos grãos em um período que pode variar de 3 a 4 semanas dependendo do clima, o que permite a liberação da área para outra cultura subsequente possa ser instalada, proporcionando assim um uso mais otimizado da terra, o que sabemos que é extremamente importante nos dias de hoje tanto na agricultura como também na pecuária.

Leva também a uma significativa redução nas perdas no campo por condições climáticas adversas, já que possibilita a retirada da cultura mais precocemente, reduzindo assim, o tempo exposição da mesma as intempéries

que podem trazer perdas, pelo mesmo motivo também possibilita uma diminuição do ataque de insetos e pássaros, como diminuir a presença de fungos.

Proporciona uma alta qualidade sanitária dos grãos já que reduz a presença de fungos, contaminação por toxinas produzidas pelos mesmos e que podem ser extremamente nocivas aos animais, podendo causar até mesmo a morte, e redução dos resíduos de inseticidas aplicados no expurgo, já que o milho vai direto do campo, para o processamento e é rapidamente ensilado, não sendo necessário seu armazenamento in natura, que propicia o ataque de insetos.

Durante o armazenamento do milho seco é bastante comum o aparecimento de vários insetos, como também ratos, que podem acarretar enormes prejuízos principalmente com relação a qualidade dos grãos. São várias as espécies de insetos que podem atacar o grão seco estocado, segundo (Lazzari & Lazzari, 2001) as principais espécies de insetos que trazem problemas para o armazenamento de milho seco são os chamados besouros (*Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineous*), as traças-de-sereais (*Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineous*) e os gorgulhos (*Sitophilus zeamais*, *Sitophilus oryzae*). De forma geral esses insetos são totalmente eliminados na silagem de grãos úmidos, já que o ambiente com total ausência de oxigênio e a própria acidez do meio tornam impossível a sobrevivência dos mesmos nesse ambiente.

A silagem de grãos úmidos também proporciona uma redução nas perdas quantitativas e qualitativas que ocorrem normalmente durante o processo de armazenamento, ela se apresenta como uma boa opção para os produtores pois é um processo que requer um baixo investimento, além disso se comparado ao armazenamento do grão seco a silagem de grão úmido possui um custo menor.

### **2.3 Desvantagens**

Uma das principais desvantagens da silagem de grão úmido é a eventual impossibilidade de comercializar algum possível excedente da produção, para que se evite problemas como este é necessário se fazer o dimensionamento dos silos de acordo com a demanda da alimentação dos animais presentes na propriedade.

Outro grande entrave do uso da técnica da silagem de grão úmido é justamente a impossibilidade de se fazer a formulação do concentrado antecipadamente, pois logo após a retirada do silo a silagem deve ser consumida, obrigando que se faça a mistura com os demais ingredientes do concentrado tenha que ser feita praticamente todos os dias.

Segundo (Jobim et al., 1997) e (Patrício, 2002) em seus respectivos trabalhos, a silagem de grãos úmidos de milho já apresenta deterioração com menos de 24 horas após a exposição ao oxigênio do ambiente. A deterioração é mais intensa na silagem de grãos úmidos é mais rápida devido principalmente a alta qualidade da mesma. Essa deterioração também está relacionada ao rápido desenvolvimento de fungos e leveduras (MUCK et al., 1991)

### **2.4 Valor Nutricional**

É indiscutível a qualidade do grão de milho na nutrição animal, sendo que o mesmo é o principal componente encontrado nos concentrados de uma forma geral. Porem devem ser feitas algumas considerações quanto ao seu valor nutricionais quando está presente na alimentação dos animais na forma de silagem de grãos úmidos.

(Jobim et al., 1997) em seu trabalho diz que a composição química da silagem de grãos úmidos está diretamente relacionada com o teor de umidade no momento em que é realizada a ensilagem como também a proporção de sabugo presente, além de outros fatores.

Silagens com teores de umidade acima dos 35% favorecem perdas consideráveis em MS, podendo também alterar de forma significativa o conteúdo de nitrogênio e também de carboidratos solúveis presentes na silagem. Segundo alguns estudos a solubilização do nitrogênio ocorre durante o período de fermentação e de armazenagem da silagem de grãos úmidos, levando assim a uma queda no teor de nitrogênio proteico durante o período de armazenagem. (Prigge et al., 1976) diz que se há um aumento na quantidade de nitrogênio solúvel na silagem, isso pode levar a uma solubilização ácida como também pode levar a uma proteólise através da ação de microorganismos.

Antes do grão de milho completar sua maturação, a matriz proteica que cobre os grânulos de amido no milho duro, isso leva a uma limitação da digestão ruminal do amido (PHILIPPEAU et al., (1996). Por este fato, a colheita dos grãos de milho com um maior teor de umidade se comparado ao grão seco, pode ter um efeito de melhora na digestibilidade ruminal da MS.

Mesmo com os grãos de milho sendo triturados ou quebrados, os mesmos são protegidos pela estrutura chamada pericarpo, que possui grande resistência a tanto degradação microbiana, quanto também a degradação enzimática ao longo do intestino delgado dos animais, no entanto, segundo alguns estudos com silagem de grãos úmidos, vem se constatando que há um aumento da digestibilidade da matéria orgânica dos mesmos, devido principalmente ao aumento da digestão do amido, que vem a ser o principal componente desse grão.

Segundo (Demarquilly e Andrieu.,1996) a silagem de grãos úmidos apresenta uma maior digestibilidade do amido devido principalmente a uma fragilização da matriz proteica que recobre os grãos de amido do chamado endosperma periférico.

Um ponto vital para se entender o quão degradável o amido vai ser no ambiente ruminal é a relação amilose:amilopectina. Segundo (Van Soest, (1994) o amido é considerado um polissacarídeo heterogêneo, sendo composto principalmente por duas moléculas, a molécula de amilose e a amilopectina que estão ligadas entre si através de pontes de hidrogênio.

Enquanto a amilose é considerada um polímero linear formado por unidades D-glicose, que são unidas por ligações do tipo  $\alpha$ -1,4, já a amilopectina é considerada um polímero ramificado, sendo formada por uma cadeia linear de resíduos de glucose ( $\alpha$ -1,4) com pontos de ramificação  $\alpha$ -1,6 a cada 20 a 25 unidades.

A proporção dos polímeros (amilose e amilopectina) que estão presentes nos grãos de milho influenciam de forma direta a taxa de degradação do amido no rumem. É fato que a degradabilidade do amido é inversamente proporcional ao teor de amilose, sendo assim, o grão de milho ainda imaturo possui muito mais amilopectina em relação a amilose, podendo assim apresentar maior digestibilidade.

## 2.5 Reidratação

A reidratação ou como também é conhecida reconstituição, consiste basicamente em dar novamente ao grão que já estava seco a umidade adequada para que se possa realizar o processo de ensilagem de modo que se evite as perdas tanto por falta de umidade, como também os problemas causados pelo excesso da mesma (DEFOOR et al., 2006); (GOODRICH et al., 1975); (TONROY et al., 1974).

O uso dessa técnica pode ser uma ótima alternativa para os problemas apresentados na colheita do grão úmido, sendo que nesse estágio de maturação em que o milho se encontra formando a linha negra na base do grão, no qual a planta apresenta uma umidade em torno de 35% a 40%, pode trazer muitos problemas de ordem logística devido ao curto espaço de tempo que a planta fica nesse estágio, dificultando a colheita que em maior parte ocorre durante a estação chuvosa aqui no Brasil, podendo assim aumentar consideravelmente a possibilidade de insucesso da técnica, pelo fato do excesso de perda de umidade dos grãos em pouco tempo.

A reidratação também pode ser utilizada como uma técnica para driblar algum atraso que possa ter ocorrido durante a colheita dos grãos úmidos, quando o teor de matéria seca ultrapassa o limite indicado para realização do processo de ensilagem do grão úmido.

Segundo (Andrade Filho et al., 2010); (Hoffman et al., 2011) além de possibilitar um aumento considerável na digestibilidade do amido, também

concentra a operação de moagem de todo o produto a ser utilizado, diferente da prática usual que comparativamente utiliza pequenas quantidades do produto há medida que o grão é necessário para alimentar os animais. Outro ponto positivo da reidratação também, é reduzir os custos com o transporte e armazenamento dos grãos.

Algo importante na reidratação para a confecção de silagem é sem dúvida nenhuma a homogeneização da água ao grão moído, pois caso sua incorporação ao milho não ocorra de forma vigorosa, a hidratação do grão não será perfeita, podendo resultar em perda do material ensilado por crescimento de fungos (PEREIRA, 2011).

## 2.6 Enzimas na alimentação de ruminantes

As enzimas são proteínas produzidas pelos organismos vivos que tem a função de acelerar as reações químicas de uma forma seletiva reduzindo assim o tempo necessário para a reação. As enzimas atuam como catalizadores, reduzindo assim a energia necessária para a reação acontecer, levando a um menor tempo de reação e também um menor gasto de energia. Essas enzimas atuam de forma muito específica.

As enzimas que são utilizadas na produção animal, principalmente como aditivos são obtidas através do cultivo de micro-organismos que produzem essas enzimas (PLANCHOT et al., 1995). A separação das enzimas do meio de cultura no qual estão os micro-organismos é feita tanto através de decantação, como também pode ser feita através precipitação, feita através do uso de sulfato de amônia ou algum outro solvente orgânico, como por exemplo a acetona (GUPTA et al., 2003). Após ser isolada, a solução que contém a enzima é enviada para análise, onde se busca principalmente quantificar a atividade dessa enzima, ou como também é chamada, quantidade molar. Essa atividade enzimática indica o quanto a enzima é capaz de atuar sobre o substrato sobre o qual ela atua, a unidade que expressa essa capacidade da enzima pode variar de acordo com a técnica utilizada por se fazer a medição (FREY et al., 2007).

A estrutura das cadeias de aminoácidos presentes nas enzimas interferem de forma direta na funcionalidade da enzima. Uma fato importante é que outros agentes pode mudar a estrutura da enzima, como por exemplo agentes físicos ou químicos. As técnicas utilizadas para se fazer a inativação é peculiar de cada enzima, o que lhes permite proteger a sua conformação molecular. A ação das enzimas pode ser inibidas por alguns íons, especificamente os íons metálicos, que são reagentes hidratados ou sulfatos e também EDTA (GUPTA et al.,2003).

As enzimas possuem uma estrutura em sua cadeia que é chamada de sitio ativo, o qual é responsável pela conexão com a cadeia do substrato ao qual a enzima irá atuar, levando a quebra do composto. Nesse local estão situados alguns grupos químicos que são ionizáveis, que podem ter tanto uma carga negativa como também podem possuir uma carga negativa. O pH do meio interfere de forma direta na conformação da cadeia, o que exige que o valor esteja muito próximo para que a enzima tenha sua máxima capacidade catalítica (PLANCHOT et al., 1995).

As denominações das enzimas, são classificadas de acordo com o tipo de reação que as mesmas catalisam, ou um ponto específico onde quebram a cadeia. As enzimas são divididas em 6 classes que variam de acordo com o tipo de reação química que utilizam para a quebra do substrato, são elas: oxidorredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases.

A utilização de enzimas exógenas na alimentação de animais ruminantes teve início por volta dos anos 1960, quando foi feito o uso de uma mistura de enzimas que possuíam atividade aminolítica, proteolítica e celulolítica na alimentação de gado de corte, que apresentou como resultado, um aumento na eficiência de ganho de peso dos animais, pelo consumo de matéria seca, que passou de 6 para cerca de 21,2%(BURROUGHS et al., 1960).

Nos dias de hoje, as enzimas vem sendo cada vez mais utilizadas e avaliadas como formas de quebrar nutrientes que estão presentes na dieta, como também para avaliação de sua ação no trato digestivo (DEFRAIN et al., 2005); (FERRARETTO et al., 2011); (KLINGERMAN et al., 2009);( NOZIÈRE et al., 2014);(VARGAS-RODRIGUES et al.,2014); (WEISS et al., 2011). As repostas dos ruminantes a utilização de enzimas exógenas em sua

alimentação apresenta resultados muito variados na literatura, isso ocorre devido a diferença nas enzimas que são testadas, como também o substrato, dosagens e também as formas de fornecimento dessas enzimas (TRICARICO et al., 1998).

## 2.7 Amilases

A primeira a ser descrita na história foi a amilase, essa fato ocorreu no ano de 1833 pelo cientista Frances Anselme Payen (SUJANI et al., 2015). São definidas como amilases as enzimas que são capazes de quebrar o amido na presença de agua, em uma reação denominada hidrolítica.

A hidrolise é descrita como uma reação heterogenia, que envolve a enzima no meio liquido e a parte solida que, no caso é o amido. Nesse processo ocorre a difusão da enzima, e em seguida uma absorção e subsequente reação de catalise. A enzima inicia o seu ataque ao amido penetrando em poros presentes nos grânulos de amido nos grãos dos cereais, onde o processo de hidrolise ocorre de forma rápida no sentido radial, iniciando na periferia do grânulo para o centro, formando assim novos canais de entrada. Desta forma é aumentada a superfície de contado da enzima com seu substrato, intensificando assim a hidrólise que ocorre de dentro para fora (ZHANG et al., 2013).

O grupo das enzimas denominadas de amilases foi criado em 1992, com a característica de atuar sobre a ligação  $\alpha$ -glicosídica, esta possui quatro sítios de ligação com o substrato catalítico e possui os aminoácidos arpartato e glucamatona cadeia e também em seus sítios catalíticos. As famílias das alfa-amilases é composta por cerca de 32 enzimas bem distintas e que podem ser divididas em quatro grupos, são eles: 1) endoamilase: quebra ligação  $\alpha$ -1,4 resultando em produtos  $\alpha$  anoméricos, 2) exoamilase: quebra  $\alpha$ -1,4 ou  $\alpha$ -1,6 resultando em produtos  $\alpha$  e  $\beta$ , c) enzima 3) desramificadora: hidrolizam  $\alpha$ -1,6 resultando em polissacarideos lineares, 4) transferase: quebra a ligação glicosídica e forma uma nova molécula com as partes geradas (SIVARAMAKRISHNAN et al., 2006).

Alguns estudos vem demonstrando que a adição de enzimas nas dietas animais podem melhorar a digestão de nutrientes e também melhorar o

desempenho animal. Entretanto, a forma de ação dessas enzimas ainda não está totalmente conhecido. Algumas evidências tem sugerido aos pesquisadores que o mecanismo de ação não é simples e pode ter o efeito de vários fatores (Beauchemin et al., 1998);( MCALLISTER et al.,2001).

No rumem as enzimas podem agir diretamente no alimento ou ainda estimular de forma indireta a digestão, podendo potencializar a ação das enzimas produzidas pelos microorganismo (McAllister et al.,2001). (Morgavi et al 2000) verificaram em seu trabalho, que existe um sinergismo entre as enzimas exógenas adicionadas a alimentação e as enzimas produzidas pelos microorganismos presentes no rumem, e podem ficar ativas ate o abomaso e intestino, auxiliando assim a digestão de nutrientes que possam escapar da fermentação ruminal.

Um aumento na taxa de degradação ruminal do alimento no rumem, está ligado com uma melhora da colonização dos alimentos pelos microorganismos ruminais em função do tratamento enzimático aplicado (COLOMBATO et al; 2003).

## **2.8 Digestibilidade do amido**

O amido é o principal componente presente em muitos grãos de leguminosas nas quais pode representar cerca de 70 a 80% de sua composição total, além de estar presente nos grãos o amido também pode ser encontrado na raízes como é o caso dos tubérculos. O amido também é considerado um polissacarídeo heterogêneo pois o mesmos pode ser composto de dois polímeros denominados de amilose e amilopectina . A amilose é considerado um polímero linear que possui em sua estrutura unidades de glicose que ficam unidas graças a ligações do tipo  $\alpha$ -1,4, já a amilopectina é considerada um polímero ramificado, que formada por uma cadeia linear de resíduos de glucose unidos pelas ligações  $\alpha$ -1,4 com pontos de ramificação nos quais possuem as ligações  $\alpha$ -1,6 que ocorrem a cada 20 a 25 unidades.

Segundo Jobim et al., 2003) a proporção da amilose em relação a amilopectina presentes nos grãos influencia diretamente a taxa de degradação e também a digestibilidade do amido. Afirma que a digestibilidade do amido é

inversamente proporcional ao teor de amilose presente nos grãos. Sendo assim as fontes de amido que possuem uma maior concentração de amilopectina em relação a amilose podem possuir uma maior digestibilidade, como é o caso do grão de milho imaturo utilizado para silagem de grãos úmidos.

Kotarski et al., 1992) diz em seu trabalho que a proporção de amilose presente no granulo de amido pode variar de 14 a 34%, e a amilopectina representa algo em torno de 70 a 80% do amido presente nos grãos de milho.

Van Soest (1994) em seu trabalho diz que o amido é um material que possui alta digestibilidade, no entanto essa digestão pode sofrer influências, entre as quais pode-se citar: endosperma, processamento pelo qual o grão passou, nível de ingestão do amido pelo animal, interação que há entre o amido e a proteína, integridade celular e também pela possível presença de inibidores.

Segundo Huntington, (1997) ao chegar ao rúmen o amido é degradado principalmente pela ação de bactérias aminolíticas, que como o próprio nome sugere são microorganismos especializados na degradação do amido, no entanto essa degradação do amido no rúmen também pode ser realizada pela ação de fungos e protozoários. Segundo Huntington, (1994) o aumento na taxa de degradação ruminal do amido é traduzida em um ganho significativo de eficiência alimentar dos animais, melhorando a relação (ganho de peso/kg de alimento).

Rojo et al.,(2005) em seu trabalho avaliaram a eficiência do aproveitamento do amido oriundo do grão de sorgo, observaram que houve um maior ganho de peso diário dos cordeiros que receberam amilase na ração, segundo os dado apresentados pelo autor observou-se um incremento no ganho de peso de 13,9% em relação aos animais que não receberam a amilase em sua alimentação.

### **3 - MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado na área experimental do setor de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande

Dourados - FCA/UFGD, que fica localizada no município de Dourados – MS no período de maio a junho de 2016, com latitude de 22º 14'S, longitude de 54º 49'W e altitude de 450 m acima do nível do mar.

Para se determinar a digestibilidade do amido em relação aos diferentes tratamentos foram utilizados 6 ovinos da raça Santa Inês, confinados em gaiolas metabólicas individuais com uma área de (1,5m<sup>2</sup> de diâmetro) para que possa se fazer a coleta total de fezes e urina durante o período experimental. As gaiolas foram numeradas para identificação dos animais.

Os animais passaram por um período de adaptação de 16 dias para o início das atividades experimentais. Nos primeiros quatro dias os animais receberam uma alimentação contendo uma proporção volumoso:concentrado de 50:50, após este período foi feita a mudança para a proporção de 40:60, após foi feita uma nova mudança, incluindo a proporção 30:70, quando nos últimos 4 dias do período foi feita mudança final na alimentação dos animais passando a alimentação para uma proporção de 20:80 que foi a proporção utilizada durante o período experimental.

O volumoso a ser utilizado foi o feno de gramíneas do gênero *Cynodon* spp. (Jiggs, Tifton 68 e Tifton 85). Estes foram triturados e misturados na mesma proporção, para composição da dieta animal. A mistura proteica fornecida aos animais foi constituída de grãos de soja moído e sal mineral na proporção de 12kg de grão de soja moído e 2kg de sal mineral, ambos devidamente homogeneizados para que no momento de sua adição a dieta dos estarem em suas respectivas proporções conforme o estipulado pelo experimento.

A silagem de grãos úmidos foi feita em tambores devidamente vedados para evitar a entrada de oxigênio, sendo ensilada cerca de 45 dias antes do início do período experimental.

A oferta de alimento foi realizada às 07:00 e 13:00h. A Água será disponibilizada diariamente à vontade. Serão oferecidas 60% da dieta no período da manhã e 40% no período da tarde.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente nas gaiolas sendo numeradas de 1 a 6. Foi utilizado um delineamento em quadrado latino (3x3) repetido no tempo, considerando-se 3 tratamentos e 3 períodos experimentais, onde avaliou-se a resposta das enzimas aplicadas a silagem de grãos úmidos.

Os tratamentos seguiram a seguinte forma: CON (Controle sem adição de enzima); AMG (Adição de enzima glucoamilase) e LYS (Adição de enzima alfa-amilase).

O controle do consumo da dieta foi realizado diariamente subtraindo-se a quantidade de alimento ofertado pela sobra no cocho, dentro da margem percentual de 15 a 20.

No início do experimento foram realizadas as pesagens dos animais e posteriormente a cada 14 dias, foram coletadas amostras das dietas e dos nutrientes (mistura proteica, silagem de grãos úmidos e feno) em sacos plásticos e encaminhadas ao laboratório de nutrição animal (LANA) da UFGD e colocadas em estufa de ventilação forçada de ar à 55°C por 72 horas para pré-secagem.

As amostras das sobras e dos fornecidos foram coletadas nos últimos 4 dias de cada período experimental, armazenadas em sacos plásticos identificados, após a pesagem e foi feito um *pool* das amostras de tudo que foi coletado, para posterior análise no LANA para avaliação quanto à composição bromatológica conforme a metodologia de Silva & Queiroz (2006), determinando assim o teor de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e segundo a metodologia de Van Soest et al. (1991), foi determinado a Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA). O *pool*, posteriormente foi moído em moinho de faca com peneira de crivo de 1 mm de diâmetro e acondicionado novamente em sacos plásticos previamente identificados.

Foram realizadas a coleta total de fezes e de urina a cada 24 horas nos três últimos dias de cada período. Essa coleta foi realizada através da utilização de baldes que continham uma tela em suas bordas com o objetivo de separar totalmente as fezes. A tela fica colocada no balde de forma a permitir a

passagem da urina a qual caia dentro do balde, enquanto as fezes são desviadas e caiam em uma bacia.

Para evitar a volatilização do nitrogênio da urina durante as 24 horas de coleta foi adicionado 2ml de ácido sulfúrico a urina, sendo colocado 1ml no período da manhã e 1ml no período da tarde.

Após as 24 horas completas de coleta, foi realizada a coleta da urina a qual era medida através de uma pipeta volumétrica e anotada a quantidade excretada por cada animal, também foi realizada a coleta de 50ml em recipientes de plástico devidamente identificados, que foram levados para conservação em freezer no laboratório de nutrição animal. Após o período de coleta, as amostras recolhidas foram descongeladas e foi feito o *pool* das amostras dos quatro dias de coleta para posteriormente serem realizadas as análises.

As fezes foram quantificadas através do uso de balança eletrônica, foi feita a anotação dos valores excretados por cada animal e posteriormente foi realizada a coleta, sendo colocadas as amostras do total das fezes em sacos plásticos devidamente identificados e imediatamente levados para a conservação em freezer no Laboratório de Nutrição Animal. Após o período de coleta as amostras recolhidas foram descongeladas e foi feito o *pool* das amostras dos quatro dias de coleta para posteriormente serem realizadas as análises.

O teor de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) obtido seguindo a metodologia AOAC (1995) e a Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA) conforme metodologia de VAN SOEST et al. (1991). O *pool*, posteriormente foi moído em moinho de faca com peneira de crivo de 1 mm de diâmetro e acondicionado novamente em sacos plásticos previamente identificados.

#### 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as análises realizadas, pode-se observar que houve uma diferença entre os tratamentos contendo a adição de enzimas amilolíticas em relação ao tratamento controle do presente experimento. Quando comparamos o tratamento (COM) em relação ao tratamento (AMG) podemos notar que o consumo em kg de matéria seca foi superior no tratamento (AMG), apresentando um valor 13% maior em relação ao tratamento (CON). (Tabela 1).

Isso também ocorreu quando comparamos o tratamento (CON) em relação ao tratamento (LYS), nessa comparação pode-se notar que houve uma diferença significativa no consumo de matéria seca, sendo 30% maior no tratamento (LYS) em relação ao tratamento (CON).(Tabela 1).

Beauchemin et al., 2004) em seu trabalho diz que a associação das enzimas exógenas diretamente no alimento pode levar a um maior ataque enzimático durante a pré-ingestão ou até mesmo aumentar a resistência dessas enzimas ao ataque das proteases ruminais devido a formação de complexos entre a enzima e o alimento. Sutton et al., 2003) concluíram em seu experimento com vacas houve uma maior ingestão de matéria orgânica digestível nos tratamentos que utilizaram enzimas exógenas. Pelo fato de ter ocorrido um maior consumo de matéria seca nos tratamentos que utilizaram a enzimas exógenas, também houve uma aumento significativo tanto no consumo de proteína bruta como o de amido.

Tabela 01- Consumo de matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>	
	COM	AMG	LYS		CON vs ENZ	AMG vs LYS
Consumo (kg/dia)						
Matéria seca	0.900	1.040	1.300	0.06	0.018	0.035
Proteína bruta	0.120	0.141	0.176	0.01	0.050	0.093
Amido	0.243	0.313	0.408	0.02	0.024	0.099
FDN	0.295	0.250	0.373	0.02	0.782	0.104
Consumo						
Matéria seca (%PV)	1.53	1.77	2.17	0.10	0.026	0.056
Matéria seca (%PM)	4.22	4.92	6.03	0.27	0.020	0.049
FDN (%PV)	0.490	0.433	0.621	0.04	0.673	0.084

<sup>1</sup> CON (Controle sem adição de enzima); AMG (AMG 300L), adição de glucoamilase, atividade enzimática de 300UI/ml; LYS ( Liquozyme supra 2.2X®), adição de alfa-amilase, atividade enzimática 300UI/ml.<sup>2</sup>EPM (erro padrão da média);<sup>3</sup>Valores da probabilidade dieta controle vs dieta com enzimas; dieta com AMG 300L® vs Liquozyme supra 2.2X®

Foi observado ao ser feita a comparação entre o tratamento controle e os tratamentos contendo enzimas, houve uma taxa de digestibilidade da matéria seca de 13% maior nos tratamentos que continham enzimas. Quando comparados os tratamentos entre enzimas não houve diferença entre os tratamentos. Ao ser comparada a digestibilidade aparente da proteína bruta, foi observada uma taxa de 12,5% maior nos tratamentos utilizando enzimas em relação ao tratamento controle. Porém ao compararmos tratamentos contendo as enzimas AMG e LYS respectivamente não houve diferença entre os mesmos.

Takiya, (2016) observou que a adição de enzimas amilolíticas adicionadas na alimentação de vacas em lactação aumentou ( $P=0,031$ ) a digestibilidade aparente da proteína bruta, tendendo também a aumentar a digestibilidade da matéria seca em ( $P=0,060$ ).

Metwally e Schwarz, (2015) observaram em seu trabalho que a adição de amilases na alimentação de bois, houve um ganho significativo na digestibilidade aparente de FDN. Porem ao serem comparados os resultados do presente experimento, referentes a digestibilidade de FDN não foi observada diferença tanto nos tratamentos contendo enzimas em relação ao controle, como também quando comparados os tratamentos com adição de enzima entre si.

Tabela 02- Coeficiente de digestibilidade aparente total de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	COM	AMG	LYS		CON vs ENZ	AMG vs LYS
<b>Coeficiente de digestibilidade (%)</b>						
Matéria seca	73.07	84.10	83.65	2.92	0.002	0.948
Proteína bruta	70.89	81.35	80.78	3.13	0.001	0.932
Amido	90.94	95.63	95.52	1.93	0.043	0.983
FDN	64.49	68.66	70.79	2.26	0.332	0.713

<sup>1</sup> CON (Controle sem adição de enzima); AMG (AMG 300L), adição de glucoamilase, atividade enzimática de 300UI/ml; LYS ( Liquozyme supra 2.2X®), adição de alfa-amilase, atividade enzimática 300UI/ml.<sup>2</sup>EPM (erro padrão da média);<sup>3</sup>Valores da probabilidade dieta controle vs dieta com enzimas; dieta com AMG 300L® vs Liquozyme supra 2.2X®

Observou-se que houve diferença no consumo de nitrogênio (g/dia) foi maior nos tratamentos que continham enzimas, em relação ao tratamento controle, esse consumo foi 14% maior nos tratamentos contendo enzimas. Já ao compararmos os tratamentos enzimáticos entre si, apesar de ser observada diferença numérica, não foi encontrada diferença estatística entre os mesmos. (Tabela 3)

Em termos de excreção de nitrogênio tanto nas fezes quanto na urina não houve diferença entre os tratamentos experimentais tanto comparando o tratamento controle em relação aos tratamentos contendo enzimas, como também quando comparados os tratamentos enzimáticos. (Tabela 3)

TAKIYA, C. S.(2016) observou que a adição de enzimas amilolíticas na dieta de vacas em lactação houve uma tendência de diminuição na excreção de nitrogênio das fezes o que leva a um aumento no nitrogênio retido.

Quando comparados o balanço de nitrogênio ingerido e retidos pelos animais, observou-se que houve diferença estatísticas entre o tratamento controle em relação aos tratamentos enzimáticos, os quais apresentaram resultados 27,5% maior de nitrogênio absorvido em relação ao tratamento controle. Ao ser observada a quantidade de nitrogênio retido pelos animais foi observada uma retenção 54% maior nos tratamentos contendo enzimas.

Indício apontam que pode haver uma maior disponibilidade de nitrogênio solúvel em silagem de grãos úmidos, isso explicaria os resultados obtidos pelo

experimento pois os mesmos apresentaram que houve uma maior ingestão em relação ao tratamento controle, como também uma maior retenção.

Entretanto quando comparamos as diferentes enzimas entre si não foi observada diferença entre os tratamentos tanto na comparação do nitrogênio absorvido como também no nitrogênio retido. (Tabela 3)

Tabela 03 – Balanço de nitrogênio de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	COM	AMG	LYS		CON vs ENZ	AMG vs LYS
Consumo (g/dia)						
Nitrogênio	19.30	22.96	27.99	1.56	0.045	0.118
Excreção (g/dia)						
Fezes	4.41	3.94	5.36	0.36	0.767	0.138
Urina	10.77	11.81	12.01	1.21	0.502	0.914
Balanço (g/dia)						
Nitrogênio absorvido	15.03	18.87	22.62	1.43	0.024	0.139
Nitrogênio retido	4.08	7.23	10.60	1.62	0.019	0.215

<sup>1</sup> CON (Controle sem adição de enzima); AMG (AMG 300L), adição de glucoamilase, atividade enzimática de 300UI/ml; LYS ( Liquozyme supra 2.2X®), adição de alfa-amilase, atividade enzimática 300UI/ml.<sup>2</sup>EPM (erro padrão da média);<sup>3</sup>Valores da probabilidade dieta controle vs dieta com enzimas; dieta com AMG 300L® vs Liquozyme supra 2.2X®

## 5 – CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a adição de enzimas amilolíticas a silagem de grãos úmidos é uma boa alternativa para o aumento do consumo dos animais, como também apresenta valores significativamente maiores de digestibilidade tanto de amido como também proteína bruta, levando a uma maior eficiência que pode ser traduzida em maior produtividade.

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE FILHO, R. et al. Degradabilidade ruminal in situ de grãos de milho, maduros do tipo Flint ou dentado, secos ou reconstituídos e ensilados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. Anais... Salvador; SBZ, 2010<sup>a</sup>. 1 CD-ROM.

BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P. A rationale for the development of feed enzyme products for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, p. 23-36, 2004b.

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

BURROUGHS, W. et al. Enzyme addition to fattening cattle rations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 19, p. 458–464, 1960.

COSTA, C.; MEIRELLES, P.R.L.; REIS, W. Silagem de grãos úmidos de cereais na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2., Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, p.133-160, 2004.

DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J. Quelques rappels sur les mesures effectuees pour connaitre la valeur nutritive des ensilages de maïs. In: Colloque maïs ensilage, 1996. Nantes-France, p. 23 - 33, Nantes, 1996.

DEFFOR, p. j.; BROWN, M. S.; OWENS, F. N. reconstitution of grain sorghum for ruminants. In CATTLE GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, 1., 2006, Oklahoma. Processing... Oklahoma: CGP, 2006. P. 93-98.

DEFRAIN, J. M. et al. Effects of dietary alpha-amylase on metabolism and performance of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign,

v. 88, n. 12, p. 4405–4413, 2005.

FREY, P. A.; HEGEMAN, A. D. **Enzymtic reaction mechanisms**. 2nd ed. New York: Oxford, 2007.

FERRARETTO, L. F. et al. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 3, p. 1490–1499, 2011.

GOODRICH, R. D; BYERS, F. M.; MEISKE, J. C. Influence of moisture content, processing and reconstitution of fermentation of com grain. **Journal of Animal Science, Champaing**, v. 41, p. 876-881. 1975.

GUPTA, R. et al. Microbial alfa-amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, London, v. 38, p. 1599–1616, 2003.

HOFFMAN, P. C. et al. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture com. **Journal of Daity Science, Champing**, v. 94, n. 5, p. 2665-2474, May 2011.

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**. v. 75, p.852-867, 1997

JOBIM, C.C.; BRANCO, A.F.; SANTOS, G.T. Silagem de grão úmido na alimentação animal de bovinos leiteiros. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE E LEITE. Campinas. **Anais...** CBNA, p. 357-376, 2003.

JOBIM, C.C., CECATO, U., CANTO, M.W. Utilização de silagem de grãos de cereais na alimentação animal. In: Anais... Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Maringá, 2001. p.146-176, 2001.

JOBIM, C.C., REIS, R.A., SCHOKEN-ITURRINO, R.P. Desenvolvimento de microrganismos durante a utilização de silagens de grãos úmidos de milho e de espigas de milho sem brácteas. *Acta Scientiarum* 21(3):671-676, 1999.

JOBIM, C.C., REIS, R.A., MARTINS, E. N., ALCALDE, C. R. Degradabilidade In situ da matéria seca e da proteína bruta de silagens da planta de milho, dos grãos úmidos e de espigas sem brácteas. *Acta Scientiarum*. 21(3):665-67, 1999.

JOBIM, C.C., REIS, R.A., RODRIGUES, L.R.A., et al. Presença de microrganismos na silagem de grãos úmidos de milho ensilado com diferentes proporções de sabugo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 32(2): 201-204, 1997.

JOBIM, C.C., REIS, R. A, RODRIGUES, L.R.A. Avaliação da silagem de grãos úmidos de milho (*Zea mays L.*). *Pesq. agropec. bras.*, 32(3):311-31, 1997.

JOBIM, C.C., REIS, R.A. ROSA, B. ANDRADE, P. Avaliação do valor nutritivo das silagens de grãos úmidos e de espigas de milho sem brácteas. *Rev. Unimar*, 18(3):545-52, 1996.

KOTARSKI, S.F., WANISHA, R.D., THUR, K.K. Starch hydrolysis by ruminal microflora. *Journal of Nutrition*, 122:178-190, 1992.

KLINGERMAN, C. M. et al. An evaluation of exogenous enzymes with amylolytic activity for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 3, p. 1050–1059, 2009.

LAZZARI, F.A., LAZZARI, S.M.N. Aspectos sanitários da silagem de grãos úmido de milho. In: LAZZARI & LAZZARI, Silagem de grãos úmido de milho, Ed. Leal Ltda, Curitiba, 2001, p.39-46.

LEH, W.M. Elaboração de silagem de grão úmido de milho em grandes propriedades. In: LAZZARI, F. A.; LAZZARI, S. M. N. **Silagem de Grão Úmido de Milho**. Gráfica Leal Ltda, p. 7-18, 2001.

MCALLISTER, T. A.; HRISTOV, A.N.; BEAUCHEMIN, K.A. et al. Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. Enzymes in farm animal nutrition. Oxon: Cab international, cap 11, p.273-298, 2001.

MUCK, R.E., PITT,R., E., LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage.1. Microbial characteristics. *Grass Forage Sci.*, 46(3):283-290, 1991.

OLIVEIRA, L.B.; PIRES, A.J.V.; CARVALHO, G.G.P.; RIBEIRO, L.S.O.; ALMEIDA, V.V.; PEIXOTO, C.A.M. Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo Sudão, sorgo forrageiro e girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.61-67,2010.

PATRICIO, V.M.I. Avaliação Nutricional da Silagem de Grãos Úmidos de Sorgo de Alto e Baixo Conteúdo de Taninos para Leitões na Fase de Creche. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá, 2002. 47p.

PRIGGE, E.C., JOHNSON, R.R., OWENS, F.N., et al. Utilization of nitrogen from ground high moisture and dry corn by ruminants. *J. Anim. Sci.*, 43:705, 1976..

PHILIPPEAU, C., CHAMPION, M., MICHALET-DOREAU, B. Influence du genotype et du stade de maturite sur la digestion ruminale de l'amidon de mais recolte au stade ensilage. In: Symposium on Silage maize, 1996, Nantes. Annales... Nantes,1996. p.379-380.

VAN SOEST, P.J. Nutritional Ecology of The Ruminant. Cornell University Pree.20 ed., 1994. 476p.

NOZIÈRE, P. et al. Amylase addition increases starch ruminal digestion in firstlactation cows fed high and low starch diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 4, p. 2319–2328, 2014.

PEREIRA, M.N. **Milho reidratado e ensilado na alimentação de vacas leiteiras.** Disponível em:

[http://www.grupodoleite.com.br/site/arquivos/Milho%20reidratado%20\(b%C3%A1sico\).pdf](http://www.grupodoleite.com.br/site/arquivos/Milho%20reidratado%20(b%C3%A1sico).pdf).

PLANCHOT, V. et al. Extensive degradation of native starch granules by alphaamylase from aspergillus fumigatus. **Journal of Cereal Science**, London, v. 21, p. 163–171, 1995.

TAKIYA, C. S. **Enzima amiolítica exógena na alimentação de vacas em lactação.** [Lactating dairy cows fed an exogenous amylolytic enzyme]. 2016. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A. The potential of supplemental enzymes in dairy and feedlot diets : fungal amylaseAlltech's. In: ANNUAL SYMPOSIUM, 18., 2002, Nottingham. **Proceedings...Nottingham: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries**, 2002. 1 CD-ROM.

VARGAS-RODRIGUEZ, C. F. et al. Effects of dietary amylase and sucrose on productivity of cows fed low-starch diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 7, p. 4464–70, 2014.

WEISS, W. P.; STEINBERG, W.; ENGSTROM, M. A. Milk production and nutrient digestibility by dairy cows when fed exogenous amylase with coarsely ground dry corn. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 5, p. 2492–2499, 2011.

SIVARAMAKRISHNAN, S. et al. alpha-amylases from microbial sources - An overview on recent developments. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 44, n. 2, p. 173–184, 2006.

SUJANI, S.; SERESINHE, R. T. Exogenous Enzymes in Ruminant Nutrition: a review. **Asian Journal of Animal Sciences**, Dubai, v. 9, n. 3, p. 85–99, 2015.

SUTTON, J. D.; PHIPPS, R. H.; BEEVER, D. E.; HUMPHRIES, D. J.; HARTNELL, G. F.; VICINI, J. L.; HARD, D. L. Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 546-556, 2003.

ZHANG, B.; DHITAL, S.; GIDLEY, M. J. Synergistic and antagonistic effects of  $\alpha$ -amylase and amyloglucosidase on starch digestion. **Biomacromolecules** Washington, v. 14, p. 1945–1954, 2013.