



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

**ENZIMAS FIBROLITICAS EM DIETAS DE
NOVILHAS LEITEIRAS: METABOLISMO
NITROGENADO**

Acadêmico: Loan Henrique Pereira da Silva

DOURADOS - MS
Abril - 2017



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

ENZIMAS FIBROLÍTICAS EM DIETAS DE NOVILHAS LEITEIRAS: Metabolismo Nitrogenado

Acadêmico: Loan Henrique Pereira da Silva
Orientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

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
Abril – 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586e Silva, Loan Henrique Pereira Da
ENZIMAS FIBROLITICAS EM DIETAS DE NOVILHAS LEITEIRAS:
METABOLISMO NITROGENADO / Loan Henrique Pereira Da Silva --
Dourados: UFGD, 2017.
41f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

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

1. Fibra. 2. Consumo. 3. Digestibilidade. 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.

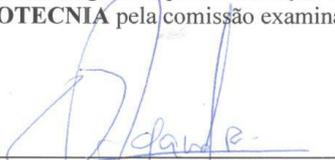
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Enzimas fibrolíticas em dietas de novilhas leiteiras: Metabolismo Nitrogenado

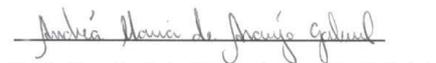
AUTOR: Loan Henrique Pereira da Silva

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

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



Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
(Orientador)



Profa Dra Andréa Maria de Araújo Gabriel



Dra Erika Rosendo de Sena Gandra

Data de realização: 04 de abril de 2017



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

OFERECIMENTOS

Primeiramente à Deus pela Fé, coragem e saúde, por sempre me dar forças nas horas mais difícil para seguir em frente e executar este trabalho.

Ao curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, aos mestres que sempre foram incentivadores do meu crescimento profissional, aos funcionários e colegas que fiz durante esta jornada.

Aos meus pais, minha irmã e namorada que não mediram esforços, para que eu pudesse concluir o curso. Espero um dia poder retribuir tudo o que já fizeram e fazem por mim. Minha mãe Maria por sempre ter apoiado em minhas decisões, meu pai Antônio por ter segurado a barra nos serviços do sitio enquanto eu estudava.

Ofereço e dedico este trabalho do fundo do meu coração como forma de gratidão.

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. Jefferson Rodrigues Gandra, pela orientação, pela confiança, dedicação, pelos ensinamentos e pelo companheirismo. Professor e orientador de muitas qualidades esta sempre buscando melhorias aos alunos. Foi um grande privilégio ter sido seu aluno e seu orientado, espero levar um pouco de seu conhecimento para a minha carreira profissional. A minha família, por sempre estarem ao meu lado me apoiando mesmo estando tão longe. Meus pais foram muito importantes nessa caminhada tanto pelo incentivo quanto financeiramente. Eles junto com minha irmã e minha namorada foram o alicerce da minha caminhada nos estudos. Aos amigos da Republica Litraço e amigos que fiz durante minha graduação (Julmir, Andrei, Luis Aldo, Anderson, Marcinho, Fabio, Murilo, João Leonardo, Thais, Pequena, Letiane, Rafael Santana, Rosalvo, Cibele, Isabela, Bruna, wellington, Carlos Braks, entre outros).

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;

Ao Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira por disponibilizar os animais para a realização deste trabalho e ao Laboratório de Nutrição Animal pela realização das análises;

Agradeço a banca examinadora por ter aceitado o convite: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra. A todos que ajudaram direta ou indiretamente a realização deste trabalho meus sinceros agradecimentos.

ENZIMAS FIBROLÍTICAS EM DIETAS DE NOVILHAS LEITEIRAS: Metabolismo Nitrogenado

RESUMO: Objetivou-se avaliar o balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana de acordo as dietas experimentais de novilhas Jersey, suplementadas com enzimas celulolíticas (xilanase) silagem de milho ou silagem de cana- de açúcar. Foram utilizadas 8 novilhas da raça Jersey, com idade de $8\pm 2,5$ meses, com peso médio 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 20 dias sendo que 14 para a adaptação das dietas experimentais e 6 para a colheita de dados. As dietas experimentais foram: 1- Silagem de milho (SM); 2- Silagem de cana (SC); 3- Silagem de milho + fibrozyme (SME) e 4- Silagem de cana + fibrozyme (SCE). As dietas experimentais foram formuladas visando ganho de peso de 800 a 900 gramas por dia, sendo estas isonitrogenadas. Houve efeito de adição de enzima nos resultados expostos no presente experimento onde os tratamentos sem adição de enzima apresentaram valores sobre os resultados de ureia e nitrogênio ureico no sangue aproximadamente 13% maior ($P=0,045$) em relação aos tratamentos com adição de enzima fibrolítica. Animais suplementados com a enzima apresentaram excreções de uréia 64,3% menor ($P=0,029$) se comparado aos animais que não obtiveram suplementação da enzima no alimento. Segundo estatística, a adição de enzima contribuiu para a redução da presença de uréia no sangue e nas excretas dos animais, auxiliando para um melhor aproveitamento do alimento ingerido, uma vez que quanto menor for a quantidade de uréia no ciclo, pode-se evitar doenças metabólicas como, por exemplo, acidose metabólica causada pelo excesso de uréia no sangue bem como outros tipos de distúrbios.

Palavras-chave: fibra, consumo, digestibilidade.

FIBROLYTIC ENZYMES IN DAIRY DIETS: Nitrogenated Metabolism

Abstract: This study aimed to evaluate the nitrogen balance and microbial protein synthesis according to the experimental diets of Jersey heifers supplemented with cellulolytic enzymes (xylanase) corn silage or sugarcane silage. Eight Jersey heifers with initial average weight of 160 ± 15 kg, and age of $8\pm 2,5$ months were used. The animals were randomly distributed into two latin square design 4×4 , balanced and contemporary, 2×2 factorial arrangement. The experimental period was 20 days, and 14 days for the adaptation to the experimental diets and 6 days for data collection. The experimental diets were: 1 - Corn silage (SM); 2 - Sugarcane silage cane (SC); 3 - Corn Silage + fibrozyme (SME) and 4 - Sugarcane silage + fibrozyme (SCE). The diets were formulated to be isonitrogenous according to NRC (2001), aiming a daily gain of 800 to 900 g. The cellulolytic enzyme addition (Fibrozyme®) did not affect dry matter intake ($P < 0.05$). However, the digestibility of dry matter, organic, and crude protein of the sugar cane silage increased ($P < 0.05$) by the supplementation of the cellulolytic enzyme

Keywords: fiber, intake, digestibility.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	2
2 - REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 –Fibras na alimentação de ruminantes	5
2.2 – Silagem de cana-de açúcar e Silagem de milho	9
2.3 –O uso de enzima na nutrição de ruminantes	12
2.3.1 – Xilanase	14
3 - MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 - Animais e dietas	17
3.2- Análises bromatológicas	18
3.3- Síntese de proteína microbiana	18
3.4 – Clearance de ureia e creatinina	19
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5 – CONCLUSÃO	24
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	15
Tabela 2 – Síntese de proteína microbiana	18
Tabela 3 – Clearance de uréia e creatinina.....	19

1 – INTRODUÇÃO

A fase de recria, que se estende da desmama ou desaleitamento até a primeira cobrição, é menos complexa que a fase de cria, mas nem por isso exige menor atenção dos produtores de leite. Do início desta fase, dos 80-90 KG do peso vivo até a puberdade é necessário observar o ganho de peso do animal. Os fatores que influenciam a composição do ganho de peso são o peso do animal, estágio do crescimento, consumo de energia acima daquela necessária para manter os processos fisiológicos normais, como circulação, digestão, respiração, manutenção, "status" proteico e o tamanho que o animal terá na idade adulta. A medida que a idade do animal vai avançando, é reduzido a taxa de formação de ossos e proteína, com aumento acentuado na deposição. (Mendes Neto et al., 2007).

O sistema de criação interfere no desenvolvimento da novilha, são os fatores dietéticos que causam grande impacto no desempenho ponderal as mesmas. O tipo de alimento que é fornecido às novilhas afeta diretamente a eficiência com que estes são utilizados para o crescimento e desenvolvimento das estruturas orgânicas, dentre elas a glândula mamária (Sartori et al., 2007).

Em programas mais avançados de nutrição de bovinos, como o NRC (National Research Council), os teores de fibras para novilhas leiteiras ainda não foram exatamente explicadas pelos experimentos científicos. Historicamente o nível de fibra depende principalmente da qualidade do alimento, e conseqüentemente interfere na densidade energética da dieta (NRC, 2001).

Os requerimentos por FDN (fibra em Detergente Neutro) para novilhas em crescimento ainda não estão completamente estabelecidos, principalmente no que se refere ao limite mínimo. Portanto, prudência é requerida, não fornecendo dieta com FDN menor que 19%, visando evitar problemas de laminitite, dentre outros. Entretanto, recomendações abaixo de 19% de FDN não são recomendados devido aos poucos experimentos realizados, o que é importante, pois o teor de FDN da dieta é um dos fatores que controla o consumo de alimento (NRC, 2001).

Pesquisas têm demonstrado que a suplementação com dietas fibrolíticas tem um potencial significativo para melhorar a utilização de alimentos e o desempenho animal. Enzimas fibrolíticas para alimentação animal, principalmente xilanases e celulases, são extratos concentrados resultantes de bactérias ou fermentações fúngicas com atividades enzimáticas específicas. Melhorias no desempenho dos animais devido a utilização de

aditivo enzimático pode ser atribuída, principalmente, a melhoria da digestão da fibra, resultando no aumento da ingestão calórica de fácil digestão (Beauchemin et al.1998).

Quando visto através de uma variedade de produtos enzimáticos e condições experimentais, a resposta para a enzima fibrolítica para animal tem sido variável. Esta variação pode ser atribuída às condições experimentais, bem como às atividades e características das enzimas ou sobre a suplementação de atividades enzimáticas e no método adequado de fornecer o produto enzimático para o animal (Gomez et al.2003).

O objetivo deste estudo foi avaliar a adição de enzimas fibrolíticas em dietas de novilhas leiteiras recebendo silagem de cana-de-açúcar e silagem de milho sobre os parâmetros nitrogenados.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – *Fibras na alimentação de ruminantes*

Devido à anatomia e fisiologia digestiva dos ruminantes é possível a utilização de matérias fibrosa na dieta (Van Soest, 1994). Essas fibras posteriormente serão convertidas em leite e carne, diferentemente dos monogástricos que não tem essa capacidade (Burns, 2008), mesmo sabendo que essa conversão é bastante ineficiente segundo (Varga & Kolver, 1997).

O papel primário da fibra na alimentação de ruminantes é o de fornecimento de substrato para atividade microbiana, que através da fermentação produzem ácidos graxos voláteis que é a principal fonte de energia para os ruminantes.

A quantidade e forma física da forragem são importantes para manter a integração e saúde do rúmen, pois estimula a mastigação e salivação, o que ajuda a tamponar o rúmen contra a severa redução de pH em dietas com alta densidade energética (Allen, 1997). Balch (1971) explicou que um limite mínimo de tempo de mastigação por dia é correlacionado com adequado fornecimento de fibra física nas dietas e com a formação da rede ruminal (“mat” ruminal). Segundo Mertens (1997) o constituinte químico associado a estas duas variáveis é a fibra em detergente neutro (FDN), que é o resíduo da parede celular vegetal insolúvel em detergente neutro.

Quando ocorre a separação dos carboidratos em fibrosos e não fibrosos se obtêm dois nutrientes com propriedades diferentes. Nutricionalmente a fibra pode ser definida como fração da parede vegetal que é lentamente digestível ou indigestível, que ocupa espaço no trato gastrointestinal (Nussioet al., 2011). Estruturalmente, a fibra é um agregado de compostos da parede celular vegetal e não uma entidade química distinta, portanto, a composição química da fibra é dependente da sua fonte e da metodologia usada na sua determinação laboratorial (Mertens, 1997). Inicialmente utilizou um macerado de alimentos que ficaram retidos na peneira como o conceito de fibra (Van Soest, 1994). Em seguida surgiu o termo Fibra Bruta (FB) por (Meyer & Logfgreen, 1959), baseando o método em lavagens do material em ácidos fortes e bases fortes. Entretanto este método retira quantidades significantes de hemicelulose e lignina, estimando o conteúdo da parede celular erroneamente.

De acordo com Van Soest & Wine (1967) desenvolveram o sistema de detergentes para análise da fibra dos alimentos. Onde o alimento é dividido na fração solúvel, a qual é

rapidamente e completamente disponível, e a fração insolúvel, que é lenta e indisponível. A FDN isola celulose, hemicelulose e lignina, com alguma contaminação de pectina, proteína e cinzas.

O NRC (2001) forneceu diretrizes para FDN dietético, FDN vindo de forragem e carboidrato não-fibroso (CNF) e discutiu sobre formulações de dietas saudáveis usando mínimos níveis de inclusão de forragem, para que não ocorra acidose ruminal sub-aguda. Foi sugerido que 75% da FDN dietética deva vir de forragens. Allen (1997) explana que a efetividade da fibra vinda de sub-produtos e de forragens é variável, podendo-se obter dietas não muito adequadas quando se usa sub-produtos na formulação de dietas, ele encontrou alta relação entre FDN vindo de forragem com pH ruminal, mas baixa relação quanto ao teor de FDN dietético.

Mertens (1997) aponta dois outros tipos de fibra que possam ser um indicador de saúde ruminal, a fibra em detergente neutro efetiva (FDNe) e a fibra em detergente neutro fisicamente efetiva (FDNfe).

Allen (1996) comenta sobre a FDNe, enfere na capacidade do alimento em manter a gordura do leite quando volumoso é substituído por outro produto. Já a FDNfe envolve característica física da fibra (tamanho de partícula) a qual influencia atividade mastigatória, um importante indicador de saúde ruminal e a natureza bifásica do conteúdo ruminal (fase sólida e fase líquida). A FDNfe é obtida multiplicando a quantidade de FDN no alimento pela proporção de partículas retidas na peneira de 1,18mm. Neste modelo é assumido que FDN é uniformemente distribuído entre todos os tamanhos de partículas; que a atividade mastigatória é igual para todas as partículas retidas na peneira de 1,18mm; e que a facilidade de redução do tamanho de partículas (fragilidade) não é diferente entre diversas fontes de FDN.

Ainda segundo Allen (1996) , que sugeriu um mínimo de 22% de FDNfe deva estar contido nas dietas, para que os animais tenham pH ruminal médio de 6,0 ou, o nível de 20% de FDNfe deve ser considerado para que possam ter atividade mastigatória aceitável, sem que haja queda na concentração de gordura no leite inferior a 3,4%.

A dieta deve conter 31,2% de FDNfe com partículas acima de 1,18 mm ou 18,5% de partículas acima de 8mm na dieta, para que a saúde do rúmen seja mantida. Entretanto, acima de 14,9% de FDNfe de partículas de 8 mm pode diminuir consumo de matéria seca. Desta maneira as pesquisas devem desenvolver dietas que aumentem o potencial fermentativo proporcionando maior digestibilidade ou maior densidade energética, sem que seja necessário modular os níveis de fibra fisicamente efetiva. (Zebeli et al. 2012)

O desafio para adequada formulação de dietas com adequado fornecimento de fibra é encontrar um método em que possibilite análise simples e que obtenha boa repetitividade (Caccamo et al., 2014). Diante disso desenvolveram um equipamento simples, de uso à campo, que estima o tamanho de partículas de forragens e da ração total (Penn State Particle Separator, PSPS). Um guia publicado por Heinrichs & Kononoff (2002) recomenda que adequada mastigação seja mantida quando a ração total contém 2 a 8% de material na primeira peneira (19,0 mm), 30 to 50% de material na peneira média (8 mm), 30 a 50% de material na peneira de baixo (1,18 mm), e menos de 20% deve estar retida na caixa do fundo. Esta proposta de Kononoff et al. (2003) é sugerida devido ao fato de partículas de tamanho de 1,18mm também colaborarem na formação da rede ruminal.

Usar uma variável animal para medida de quantidade e qualidade de fibra é adequado na tentativa de complementar as medidas laboratoriais deste nutriente (Armentano & Pereira, 1997). Tempo de mastigação do animal é fortemente correlacionado com tamanho de partículas de uma dieta bem como a quantidade de FDN vinda de forragem sendo uma excelente variável de resposta física da fibra em dietas (Woodford et al., 1986).

Burns (2008) em seu estudo envolvendo 100 anos de publicações do *Journal of Animal Science*, relata que desde a década de 30 é reconhecida a necessidade de diminuir a dependência da produção animal por dietas com alta inclusão de concentrados (grãos) devendo-se potencializar o uso de forragens. Entretanto, isso somente foi possível quando houver qualidade e eficiência no uso deste ingrediente para os ruminantes.

Como existe o fator físico limitante do consumo quando há ingestão de rações com alta proporção de fibra, existem também os fatores negativos da baixa inclusão de fibra nas rações os quais podem levar à acidose ruminal, abscesso hepático, depressão da gordura no leite, entre outros problemas (Nocek, 1997; NRC, 2001).

Os carboidratos compreendem cerca de 70 a 80% das rações fornecidas às vacas leiteiras contribuindo com grande parte da energia e precursores para síntese de componentes do leite (Mertens et al., 1997; Mertens, 2007). Forragem pode ser a menos onerosa fonte deste macronutriente para vacas leiteiras (Schingoethe et al., 1999) podendo participar entre 40 a 90% das dietas destes animais (Martins et al., 2006).

Consumo de energia é o primeiro limitante de produção para vacas de alto mérito genético e é determinado por fatores intrínsecos do animal e pelo conteúdo de energia fornecido pela dieta (Rayburn; Fox, 1993; Allen, 2000). O potencial de produção de um animal depende de sua genética e varia de acordo com o estágio de lactação, idade e fatores ambientais (NRC, 2001). Assim cada animal produz de acordo com a utilização dos

nutrientes, a menos que o consumo de nutrientes esteja comprometido pela capacidade física do rúmen (Mertens, 2007).

O desaparecimento da FDN no rúmen é resultado do processo competitivo entre digestão e passagem. Embora aumentando o tempo de retenção de alimentos no rúmen aumente a digestibilidade, isto pode, entretanto, diminuir o consumo de alimentos (Huhtanen et al., 2006; Krizsan et al., 2010; Oliveira et al., 2011). Uma unidade percentual de aumento na degradabilidade da FDN de forragem no rúmen tem sido relacionado ao aumento de 0,17 kg/dia no consumo de matéria seca e 0,25 kg/dia de leite corrigido para gordura (Oba & Allen, 1999). Da mesma maneira, aumento de 0,12 kg/dia de consumo de matéria seca e 0,14 kg/dia de leite corrigido para gordura, com a mesma elevação no percentual de degradabilidade da FDN são reportados por Jung et al. (2004). Além disso, a degradabilidade da FDN no rúmen estando aumentada há maior estímulo de síntese de proteína microbiana ruminal (Oba & Allen, 2000).

Vários fatores podem interferir na dinâmica de degradação e trânsito pelo trato digestório da FDN entre os quais se podem relatar: o animal (Huhtanen et al., 2006) como um fator interno, e fatores externos, como tamanho das partículas, taxa de redução das partículas, proporção das frações potencialmente degradáveis (FDN_{pd}) e indegradáveis (FDN_i), gravidade específica funcional, proporção de forragem vs. concentrado, tipo de forragem e suas espécies, estágio de maturidade da planta, relação folha: caule (Lund, 2002; Kuoppala et al., 2010) e população microbiana ruminal (Allen, 1996; Mertens, 1988).

O fator ambiental tem forte influência na qualidade das forragens de modo que quando há alta humidade e alta temperatura (período de safra em países tropicais como Brasil) durante o estágio vegetativo de crescimento, a digestibilidade das plantas é menor do que quando há restrição destes fatores (Van Soest et al., 1978).

Muitas estratégias foram desenvolvidas na tentativa de melhorar a qualidade da forragem para os ruminantes aumentando sua digestibilidade, como por exemplo, tratamentos físicos com vapor, calor, e com pressão; tratamentos químicos com ácidos, bases, NH₃ e ozônio; e biológicos com utilização de fungos bem como via melhoramento genético. Mas devido ao custo, dificuldade de obtenção e perdas excessivas de matéria seca, estes métodos não têm sido utilizados amplamente no cenário pecuário (Lynch et al., 2013). Atualmente esforços têm sido concentrados nos estudos com enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) no intuito de melhorar a digestibilidade das forragens e, conseqüentemente aumentar a produtividade animal (Meale et al., 2014).

O ajuste de fibra na composição da dieta de bovinos é de fundamental importância pela sua efetividade na manutenção da atividade da mastigação e do pH ruminal. Para manter um pH próximo a 6,2 o animal tem a necessidade de consumir 6,32 kg de fibra detergente neutro fisicamente efetiva (FDNfe)/dia. Dessa mesma forma, que para manter um pH típico de 5,9 é necessário um consumo igual a 3,66 kg de FDNfe/dia (Mertens, 1997). A acidose ruminal subclínica ocorre de 1 a 3 horas após uma refeição de concentrados, uma consequência da redução do pH intra-ruminal e da celulólise que não pode realizar sua função porque o pH está abaixo do limite permitido, dessa forma a aquisição preferencial de substratos metabólicos pelos microorganismos amilolíticos fica mais competitiva (Leek, 1993).

Para acondicionar uma boa digestão da fibra e produção microbiana máxima, é necessário um pH ruminal igual a 6,2 ou superior, como já foi comentado. O animal requer por sua vez no mínimo 20% de FDNe na dieta. Os níveis de FDNe indicados para bovinos confinados são: dieta com alto valor de concentrado que maximiza a eficiência alimentar (bom manejo de cocho e inclusão de ionóforos), incluindo um mínimo de FDNe de 5 a 8% da MS da dieta. Já as dietas misturadas com manejo de cocho variável e sem ionóforos, o nível mínimo necessário de FDNe é de 20% da MS da dieta. A dieta de alto concentrado para aperfeiçoar a digestão da FDN e/ou produção de proteína microbiana, o nível mínimo necessário de FDNe também é de 20% da MS da dieta. O tamanho de partícula, densidade e grau de hidratação, são os fatores que determinam a efetividade da FDN em manter o pH acima de um meio ácido. Portanto, a forma do corte e a forma que é fornecida a forragem faz com que haja a redução da efetividade da FDN. Portanto, grãos processados (quebrado, laminado, triturado e floculado) têm mais baixos FDNe do que grãos secos e inteiros (Preston, 1998).

2.2 – Silagem de cana-de-açúcar e Silagem de milho

A silagem é nada mais que uma forragem verde, succulenta, armazenada em silos e conservada por meio de um processo de fermentação sem a presença do O₂ (anaeróbica), para que em período de escassez se tenha alimento suficiente ao animal (Cardoso & Silva, 1995).

A cana-de-açúcar é uma fonte de volumoso que se destaca na alimentação de bovinos. Segundo Nussio (2003) o destaque se deve pela razão da pequena taxa de risco na utilização, o baixo custo por unidade de matéria seca produzida, a manutenção do valor nutritivo, maior

disponibilidade nos períodos de escassez de forragens e do melhor desempenho econômico em comparação a outras forrageiras, dependendo da categoria animal. Existem restrições quanto ao consumo da silagem de cana-de-açúcar para bovinos, principalmente as de raças leiteiras de nível médio e alta produção, decorrentes, principalmente, da baixa digestibilidade da fibra (Magalhães et al., 2004), o que pode comprometer o consumo voluntário. Segundo Nussio et al. (2005), o acúmulo de etanol pode não somente representar perdas do material ensilado, mas também perdas decorrentes da recusa dos animais.

Além disso, entre outras limitações, encontram-se o baixo teor de proteína, o alto teor de carboidratos solúveis, o pequeno aporte pós-ruminal de aminoácidos e de glicose, o aumento na quantidade de protozoários no rúmen e o desbalanço de minerais (Preston & Leng, 1978; Preston, 1982).

Segundo Freita et al (2006) assim como qualquer outra forrageira a cana-de-açúcar tem suas particularidade e sua características para sofrer o processo de ensilagem são elas : teor de matéria seca (MS) em torno de 25 a 30%, teor de carboidratos solúveis (CHOs) próximos a 10% da matéria natural (MN) e poder tampão que permite a queda do pH para valores próximos a 3,5.

Segundo pesquisas realizadas por Andrade et al.,(2004) e Bonomo et al.,(2009), a maior dificuldade em se adotar dietas incluindo a cana como volumoso na dieta , são os valores da proteína bruta que tem uma grande variação 1,91 a 3,81%. A concentração de nitrogênio muito baixa nessa forrageira, comparada aos resíduos pós-colheita de semente de capim- Marandu, que tem valor próximo a 3% de proteína bruta(PB). (Roth et al., 2010)

A baixa digestibilidade da fração fibrosa da cana-de-açúcar está relacionada à alta concentração de lignina e a sua ligação com os carboidratos estruturais (hemicelulose e celulose) que impede a ação dos microrganismos ruminais sobre estes carboidratos. No entanto, essas ligações do tipo éster, nas gramíneas, são particularmente susceptíveis a ação hidrolítica, justificando a utilização de álcalis no tratamento da cana-de-açúcar, promovendo solubilização de parte da lignina pelo aumento de pH (Van Soest, 1994).

Aroeira et al., (1993) diz que a cana-de-açúcar com uréia tem seu uso difundido na alimentação do gado leiteiro, devido a mesma apresentar valor baixo de proteína, devido a esse empecilho o uso de aditivos no processo de ensilagem, com a finalidade de melhorar a qualidade do produto.

Vários aditivos vêm sendo estudados e avaliados para a estabilidade aeróbia e controle da fermentação alcoólica, assim como, inoculantes com bactérias homoláticas, como *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus* e inoculantes com bactérias produtoras

de ácido propiônico. Estudos realizado por Pedroso et al., (2007), foi possível observar que o uso destes inoculantes na ensilagem da cana-de-açúcar houve efeito negativo, sobre a população de leveduras, sobre a produção de etanol e estabilidade aeróbia das silagens. Mas quando se trata de inoculantes contendo bactérias heterofermentativas, da espécie *Lactobacillus buchneri*, os efeitos do tratamento são positivos na ensilagem, há diminuição no teor de etanol, das perdas de MS e no número de leveduras, com aumento da estabilidade aeróbia das silagens (Petroso et al., 2008).

Amaral et al. (2008) avaliou a fermentação da cana-de-açúcar ensilada sem aditivo, inclusão de 1% de cal virgem ou 1% de calcário, e observou que os aditivos melhoraram o processo de fermentação da silagem e que houve redução da produção de gases e de etanol, devido à redução da perda de carboidratos solúveis.

A silagem de milho é uma das mais usadas tanto no setor de corte quanto leiteiro, por sua qualidade, sua composição bromatológica e de concentração de energia. (Neumann, 2006).

Os fatores que influênciam a composição bromatológica do milho: densidade de plantio, época de colheita, cultivar, fatores climáticos e ainda conforme a maturidade da planta avança, o estágio de 1/3 da linha do leite para 1/1, há aumento da porcentagem de matéria seca (49,6% para 64,8%), há também aumento do teor de amido 50,8% para 62,4% (Dias, 2002).

A silagem de milho é normalmente utilizada para gado de corte em crescimento ou terminação, como energia suplementar na produção de bezerros e novilhas e para as vacas em lactação, geralmente acompanhada de uma forragem rica em proteína, pois a silagem tem teor alto de energia e baixo de proteína, (Allen et al., 2003).

A silagem de milho tem teores de carboidratos solúveis, que permitem à fermentação láctica, conservando alto valor nutritivo do alimento, grande quantidade de massa verde, teor de MS, de fácil preparo e que tem uma boa aceitação dos animais (Caetano, 2001). Em estudo com silagem de milho, Tomich et al. (2006) encontraram valores de 27,3% de MS, 7,2% de PB, 51,5% de FDN, 32,4% de FDA e 4,0% de lignina.

Phipps e Weller (1979) avaliou que a silagem com altas quantidades de grãos (50% de grão de matéria seca), constituía mais fibras de detergente ácido, celulose, amido e lignina comparada a uma silagem com baixo conteúdo granífero com 26 % de matéria seca.

A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica e a ingestão de matéria seca da silagem de milho não sofrem influência com conteúdo de grãos, amido e de constituinte das paredes

celular segundo (Hemken et al., 1971; Phipps e Weller, 1979) .Pois a proporção de grãos da planta inteira freqüentemente esta correlacionada à qualidade da silagem de milho.

Na literatura, há vários fatores que influenciam na qualidade do valor nutricional da silagem de milho como, por exemplo: o grau da maturidade da planta de milho (Irlbeck et al. 1993), o processamento da silagem e tamanho da partícula (Balet al, 2000) , e digestibilidade da fibra (Oba & Allen, 1999).

Costa (2005) avaliou desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com diferentes proporções de cana-de-açúcar e concentrado ou silagem de milho na dieta, foi observado maior consumo de carboidratos não-fibrosos para o tratamento com 40% de cana-de-açúcar em relação às dietas de 60% e 50%, já a dieta de silagem de milho não deferiu, indicando também maior participação de alimento concentrado na dieta. Nesse mesmo estudo avaliou se o coeficiente de digestibilidade (CD) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHO), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não-fibrosos (CNF), porém não houve diferença entre MS, MO e CHO nas dietas. A silagem de milho teve um valor maior de coeficiente de digestibilidade de PB dentre as dietas devido o valor protéico da dieta. O coeficiente de digestibilidade do EE para silagem de milho foi maior ($P < 0,05$) que nas dietas contendo 60 e 50% de cana-de-açúcar, porém não houve diferença na dieta com 40% pois tem uma maior proporção de concentrado. No FDN a silagem de milho teve um valor maior comparado às três dietas explicado pela taxa de passagem. CDCNF para silagem de milho foi menor do que os obtidos em todas as dietas à base de cana-de-açúcar, em razão do menor teor de CNF dessa dieta.

Comparando uma dieta à base de silagem de milho com mais de 50% de cana-de-açúcar, há uma diferença entre produção de leite devido ao menor consumo de matéria seca, conseqüentemente menor consumo de nutrientes.

2.3 –O uso de enzima na nutrição de ruminantes

As enzimas são moléculas protéicas que quebram as reações químicas específicas nos sistema biológico e são produzidas pelas células animais e vegetais (Lehninger, 2007). São essenciais aos ruminantes porque estão envolvidas na hidrólise dos alimentos complexos em suas moléculas orgânicas mais simples, como glicose, celobiose, xilose, aminoácidos, ácidos graxos, que são então usadas pelos microrganismos do rúmen e/ou pelo animal (Kozlosky, 2009).

A principal fonte de energia para os animais ruminantes provem das forragens (celuloses e hemiceluloses), hidrolisadas pela ação de enzimas provenientes de bactérias, fungos e protozoários (Schingoethe et al., 1999).

A quantidade e disponibilidade de energia e proteínas para os ruminantes são influenciadas pela lenta e incompleta degradação dos substratos, prejudicando o desempenho animal, com conseqüências no custo de produção (Yang et al., 2000; Colombatto et al., 2003). As enzimas fibrolíticas exógenas é uma estratégia que busca aumentar a utilização dos nutrientes e a eficiência produtiva animal na suplementação da dieta de ruminantes com aditivos (Schingoethe et al., 1999; Nsereko et al., 2000; Beauchemin et al., 2003).

Como a maioria das enzimas, o produto de suas hidrólises pode inibir sua ação. O que é muito importante na discussão de suplementação de enzimas comerciais para ruminantes, mostrando que há um desafio para os pesquisadores em formular produtos com proporções ideais de cada tipo de enzima (celulases e hemicelulases, por exemplo) para que a inibição do produto não ocorra, assegurando desta maneira, a eficácia da enzima suplementada.

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

A classificação dos aditivos enzimáticos é a partir dos compostos que são degradados, são nomeados em celulase, xilanase e ligninase as enzimas que degradam celulose, xilana e lignina, respectivamente se tratando de ruminantes. Ressaltando a importância dos produtos das enzimas fibrolíticas, que geralmente, são combinações de atividades enzimáticas. (McAllister et al., 2001).

Mesmo que no rúmen a proporção de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas é alta, pode ocorrer exposição de sítios da parede celular á aderência bacteriana, o qual permite a melhor digestão da dieta animal, devido as atividades de enzimas fibrolíticas exógenas (Beauchemin et al., 2000).

O mecanismo de ação das enzimas exógenas adicionadas em dietas de ruminantes não é totalmente conhecido (Beauchemin & Holtshausen, 2011; Nussio et al., 2011). Cheng (1995) sugere que o ganho de produtividade observado em alguns estudos pode ser devido ao aumento da digestibilidade da fibra. Isto ocorre possivelmente devido ao fato da melhora na

colonização das partículas alimentares, como mostrado pelo trabalho de Martins et al. (2007), os quais observaram aumento na colonização da fibra com a adição de enzimas fibrolíticas aos substratos, quando avaliaram imagens de microscopia de varredura. Outra hipótese é de que as enzimas poderiam estimular a atividade enzimática endógena ruminal, ou seja, aumentam o potencial de hidrólise na fermentação ruminal (Morgaviet al., 2000).

Após a alimentação a redução do pH e menor atividade proteolítica ajuda aumentar a estabilidade das enzimas (Morgavi et al., 2001). Geralmente as enzimas exógenas atuam mais eficientemente no ambiente ruminal com pH em torno de 5,5-6,8. Entretanto, enzimas de *Trichoderma* spp., podem atuar eficientemente com pH menores e temperaturas maiores do que são encontrados tipicamente (Beauchemin & Holtshausen, 2011).

A suplementação de enzimas fibrolíticas exógenas pode aumentar a atividade enzimática no rúmen como visto por Beauchemin Rode (1996) que obtiveram aumento de 15% na atividade da celulase, e Wallace (2001) que obteve aumento de 5% da atividade xilanase. Mas este efeito é dependente da quantidade de enzimas que são inseridas nas dietas. Morgavi et al. (2000) demonstraram significativa sinergia entre enzimas exógenas e enzimas microbianas, em que uma potencializa a ação da outra. Estes autores combinaram enzimas de *Trichoderma longibrachiatum* com extrato de enzimas ruminais de bovinos recebendo alta concentração de fibra ou alta concentração de concentrado. Observaram que a hidrólise da celulose e da xilana aumentaram 35 e 100%, respectivamente. Além disso, a hidrólise da silagem de milho aumentou 40%.

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

Os níveis de enzima normalmente utilizados como aditivos para a alimentação de ruminantes variam de 0,5 a 2,0 mg/g (ou g/Kg) da dieta total, em MS, como salientado por Beauchemin et al. (2003). Porém, estes níveis são dependentes das características específicas de cada produto, como tipo de atividade das enzimas presentes.

2.3.1 – Xilanase

As bactérias, algas e fungos, são produtoras e secretoras das enzimas com atividade xilanase, sendo quase exclusivamente simples subunidades protéicas. Comercialmente são utilizadas cepas clássicas ou geneticamente modificadas para produzi-las em que o fungo filamentosso *Trichoderma spp.* é um dos mais bem conhecidos sistemas de produção industriais (Paloheimo et al., 2011).

Estes microrganismos produzem grande quantidade destas enzimas, são não-patogênicos e são facilmente cultiváveis. A cepa clássica produz, além de uma mistura de enzimas desuniforme, uma grande quantidade de toxinas e ácidos que prejudicam a produção delas mesmas. Deste modo, a engenharia genética tem um importante papel na melhoria da eficiência de produção de enzimas por direcionar a produção de um componente principal desejado pela manipulação dos genes (Paloheimo et al., 2011).

Outro fator que direciona a produção da enzima desejada é o substrato em que o microrganismo é mantido durante a produção, pois se é colocado grande concentração de celulose a enzima predominantemente produzida é a celulase, mas se é mantido grande quantidade de xilana no meio, maior concentração de xilanase é observada. (Kulkarni et al. 1999)

A aplicação da xilanas estão associadas a modificação da composição química das fibras sob utilização de hemicelulases. Essas enzimas são catalíticas e hidrolizam as xilanas que são produzidas principalmente por microrganismos. A desagregação da parede celular de plantas ocorre pela xilanase, em conjunto com outras enzimas, hidrolisam polissacarídeos e também digerem a xilana durante a germinação de algumas sementes (Polizeli *et al.*, 2005).

As endo- β -1,4-xilanases (β -1,4-xilana xilanahidrolase EC 3.2.1.8) são as principais enzimas no processo de desagregação da xilana, hidrolização da cadeia principal, para gerar oligossacarídeos não substituídos e ramificados ou esterificados. Elas diferem na sua especificidade por substratos. Algumas enzimas quebram aleatoriamente entre resíduos de xilose não substituídos, enquanto outras dependem fortemente dos substituintes próximos aos resíduos de xilose hidrolisados (Biely, 2003)

As β -xilosidases (β -D-xilosídeoxilohidrolase EC 3.2.1.37) são exoglucosidases que hidrolisam xilooligossacarídeos pequenos e xilobiose, liberando xilose. A especificidade dessas enzimas por pequenos oligossacarídeos de xilose é alta (Sunnae Antranikian, 1997).

Houve efeitos positivos em vacas lactantes e gado de corte uma boa digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN), e da fibra em detergente ácido (FDA) com o uso de enzimas xilanases e celulase. (Eunet al., 2007)

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Animais e dietas

O experimento foi conduzido no setor de Zootecnia 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 80 dias.

Foram utilizadas 8 novilhas da raça Jersey, com idade de 8±2,5 meses, com peso médio 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 20 dias sendo que 14 para a adaptação das dietas experimentais e 6 para a colheita de dados .

As dietas experimentais foram: 1- Silagem de Cana sem Fibrozyme(SC); 2 - Silagem de Cana sem Fibrozyme(SCE); 3-Silagem de Milho sem Fibrozyme(SM); 4-Silagem de Milho com Fibrozyme(SME). Os animais receberam 15g de Fibrozyme /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 tiveram a mesma concentração em fibra em detergente neutro (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Item	Dietas*			
	SM	SC	SME	SCE
Ingredientes (% MS)				
Silagem de milho	65.34	-	65.34	-
Silagem de cana	-	54.96	-	54.96
Milhofubá	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	57.30	57.30	57.55	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	40.1	40.1	40.1	40.1
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 (SME); Silagem de cana + fibrozyme (SCE).

†Contém por kilograma: 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 and 1800.00 mg Fe.

‡CNF = $100 - [(\%PB - \%PB \text{ from uréia} + \% \text{ uréia}) + \%EE + \% \text{ cinzas} + \%FDN]$ de acordo com Hall (1998).

§Calculado de acordo com NRC (2001).

3.2- Análises bromatológicas

As amostras de silagem, ingredientes do concentrado e sobras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), lignina (LIG) e Cinzas (CZ), conforme técnicas descritas por (AOAC 2002). O teor de NDT foi calculado segundo o NRC(2001).

3.3- Síntese de proteína microbiana

A colheita de urina foi realizada no 16^o 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 foram 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 na urina e os de ácido úrico na urina e alantoína do 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 $Pabs = (DP \cdot 0,236 \cdot PV^{0,75}) / 0,84$, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $DP = 0,236 \cdot PV^{0,75}$, 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): $Nmic = (70 \cdot Pabs) / (0,83 \cdot 0,134 \cdot 1.000)$, 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.

3.4 – Clearance de ureia e creatinina

O sangue foi coletado no 16º 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.

3.5- 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:

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

onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 8), P_j = efeito do período ($j = 1$ a 4), Q_k = efeito do quadrado ($k = 1$ a 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 foram corrigidos por DDFM=kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proteína microbiana sintetizada no rúmen é responsável pela maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes. A composição de aminoácidos da proteína microbiana é semelhante ao da proteína dos tecidos do próprio animal, bem como da proteína encontrada no leite. Quando comparado à composição da proteína de concentrados proteicos de origem vegetal, a proteína microbiana possui maior proporção de metionina e lisina, e com a proibição da utilização de alimentos de origem animal em dietas para ruminantes, a proteína microbiana é a que melhor atende aos requerimentos de aminoácidos do animal, (Verbic, 2002).

Foi observado efeito de silagem ($P < 0,05$) para as concentrações de alantoina. As novilhas suplementadas com enzima fibrolítica apresentaram maior concentração ($P < 0,05$) de ácido úrico em relação as não suplementadas. Em relação as purinas totais foi observado efeito de enzima ($P < 0,05$) e de silagem ($P < 0,05$). As novilhas que receberam silagem de cana apresentaram menor concentração ($P < 0,05$) de purinas totais em relação as novilhas que receberam silagem de milho. A adição de enzimas fibrolíticas aumentou a concentração de purinas totais. Novilhas que receberam silagem de milho apresentaram maior concentração ($P < 0,05$) de purinas absorvíveis em relação as que receberam silagem de cana.

As novilhas que receberam silagem de milho apresentaram maior produção ($P < 0,05$) de nitrogênio e proteína microbiana em relação as que receberam silagem de cana.

De acordo com Moscardini et al., 1998, a partir da excreção urinária de derivados de purina, principalmente alantoína e ácido úrico, o fluxo de nitrogênio microbiano para o duodeno pode ser estimado, sendo que a quantidade de ácido nucleico microbiano e como consequência a síntese microbiana ruminal são proximamente correlacionadas à excreção urinária de derivados de purina (Tabela 2).

Tabela 2. Síntese de proteína microbiana de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais				EPM	Valor de P		
	SC	SM	SCE	SME		SIL	ENZ	INT
	<i>mmol/L</i>							
Alantoína	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>							
Alantoína	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.

Houve efeito de adição de enzima sobre os resultados 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 3).

Tabela 3- Clearance de ureia e creatinina de acordo com as dietas experimentais

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	6.43	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.

A contagem 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 que receberam 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 valores 44% ($P=0,044$) em relação aos tratamentos contendo silagem de milho. Entretanto, os animais que foram 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.

A xilanase atua disponibilizando açúcar simples como fonte de nutrientes para as bactérias fermentadoras. Com a utilização da enzima xilanase juntamente com a silagem de milho e com a silagem de cana-de-açúcar melhorou a eficiência do processo fermentativo, onde pode assim melhorar a atuação de microrganismos desejáveis. A adição da enzima contribuiu para a redução da presença de uréia no sangue e nas excretas dos animais, auxiliando para um melhor aproveitamento do alimento ingerido, uma vez que quanto menor

for a quantidade de uréia no ciclo, pode-se evitar doenças metabólicas como, por exemplo, acidose metabólica causada pelo excesso de uréia no sangue bem como outros tipos de distúrbios.

5 – CONCLUSÃO

A adição de enzima fibrolíticas influenciou positivamente o metabolismo nitrogenado de novilhas leiteiras independentemente do tipo de silagem utilizado.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M. S.; MERTENS, D. R. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. **Journal of Nutrition**, v. 118, n. 1, p. 261-270, 1988.

ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, n.9, p.3063-3075, 1996.

ALLEN, M. S. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1447, 1997.

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.

ALLEN, M.S.; COORS, J.G.; ROTH, G.W. Corn Silage. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) *Silagescienceandtechnology*. Madison: American Society of

Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. p.547-608.

ALLEN, M. S.; VOELKER, L. J. A. In vivo methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2007, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2007. p. 72-89.

AMARAL, R.C.; PIRES, A.V.; SUSIN, I. Cana-de-açúcar ensilada com ou sem aditivos químicos. 1. Dinâmica fermentativa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45, 2008, Anais... Lavras. CDROM... **Lavras: SBZ, 2008** (Nutrição de Ruminantes).

ANDRADE, J.B.; FERRARI JUNIOR, E.; POSSENTI, R.A.; OTSUK, I.P.; ZIMBACK, L.; LANDELL, M.G.A. Composição química de genótipos de cana-de-açúcar em duas idades, para fins de nutrição animal. **Bragantia**, v.63, n.3, p.341-349, 2004.

ARMENTANO, L.; PEREIRA, M. Measuring the effectiveness of fiber by animal response trials. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1416-1425, 1997.

AROEIRA, L. M.; SILVEIRA, M. I.; LIZIEIRE, R. S. et al. Degradabilidade no rúmen e taxa de passagem da cana-de-açúcar mais uréia, do farelo de algodão e do farelo de arroz em novilhos mestiços Europeu x Zebu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.22, n.4, p.552-564, 1993.

BAL, M.A.; SHAVER, R.D.; SHINNERS, K.J. et al. Stage of maturity, processing, and hybrid effects on ruminal in situ disappearance of whole-plant corn silage. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.86, p.83-94, 2000.

BALCH, C. C. Proposal to use time spent chewing as an index of the extent to which diets for ruminants possess the physical property of fibrousness characteristic of roughages. **British Journal of Nutrition**, v. 26, p. 383-392, 1971.

BEAUCHEMIN, K. A., YANG, W. Z. AND RODE, L. M. 1999. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 82: 378-390.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; MAEKAWA, M.; MORGAVI, D. P.; KAMPEN, R. Evaluation of a non-starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 543–553, 2000.

BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P.; YANG, W.Z. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal Animal Sciences**, v. 81, E37-E47.

BIELY, P. 2003. **Xylanolytic enzymes**. In: Whitaker, J.R., Voragen, A.G.J., Wong, W.S. (Eds.), *Handbook of Food Enzymology*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 879–916.

BONOMO, P.; CARDOSO, C.M.M.; PEDREIRA, M.S.; SANTOS, C.C.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F. Potencial forrageiro de variedades de cana-de-açúcar para alimentação de ruminantes. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.31, n.1, p.53-59, 2009.

BURNS, J.C. ASAS centennial paper: utilization of pasture and forages by ruminants: a historical perspective. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 3647-3663, 2008.

CACCAMO, M.; FERGUSON, J. D.; VEERKAMP, R. F.; SCHADT, I.; PETRIGLIERI, R.; AZZARO, G.; POZZEBON, A.; LICITRA, G. Association of total mixed ration particle fractions retained on the Penn State Particle Separator with milk, fat, and protein yield lactation curves at the cow level. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 4, p. 2502-2511, 2014.

CAETANO, H. **Avaliação de onze cultivares de milho colhidos em duas alturas de corte para produção de silagem**. 2001.178p. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal

CARDOSO, E.G.; SILVA, J.M. Embrapa gado de corte divulga silos, silagem e ensilagem, Campo Grande, MS, 1995 n02.

COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P.; FURTADO, A.F.; BEAUCHEMIN, K.A. 2003. Screening of exogenous enzymes for ruminant diets: Relationship between biochemical characteristics and in vitro ruminal degradation. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2628-2638.

COSTA, G.M, CAMPOS, J.M.S.; FILHO, S. C. V.; VALADARES, R. F. G.; MENDONÇA, S.S.; SOUZA, D. P., TEIXEIRA M. P. 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, n.6, p.2437-2445, 2005

DIAS, F.N. **Avaliação de parâmetros agronômicos e nutricionais de híbridos de milho (Zeamayz L.) para silagem.** 2002. 95p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002

EUN, J.S. AND BEAUCHEMIN, K.A. 2007. Assessment of the efficacy of varying experimental exogenous fibrolytic enzymes using in vitro fermentation characteristics. **Animal Feed Science and Technology**, 132: 298-315.

FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; COSTA, M.G.; LEONEL, F.P.; RIBEIRO, M.D. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana de açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo de colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v. 35. n. 1. p. 38- 47. 2006.

HEINRICHS, P. J.; KONONOFF, P. J. **Evaluating particle size of forages and TMRs using the New Penn State Forage Particle Separator.** University Park: Pennsylvania State University/Department of Dairy and Animal Science, 2002. 14 p (Technical Report DAS 02-42).

HEMKEN, R.W.; CLARK, N.A.; GOERING, H.K. et al. Nutritive value of corn silage as influenced by grain content. **Journal Dairy Science.**, v.54, p.383-389, 1971

HUHTANEN, P.; AHVENJÄRVI, S.; WEISBJERG M. R.; NORGAARD P. Digestion and passage of fibre in ruminants. In: SJERSEN K.; HVELPLUND T.; NIELSEN M. O. (Ed.).

Ruminant physiology, digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress. Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2006. p. 87–135.

IRLBECK, N.A.; RUSSELL, J.R.; HALLAUER, A.R. et al. Nutritive value and ensiling characteristics of maize stover as influenced by hybrid maturity and generation, plant density and harvest date. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.41, p.51-64, 1993.

JUNG, H. J. G.; RAETH-KNIGHT, M.; LINN, J. G. Forage fiber digestibility: Measurement, variability, and impact. In: MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE, 65., 2004, St. Paul. **Proceedings...** Minneapolis: University of Minnesota, 2004. p. 105–125.

KOSLOZKY, G. **Bioquímica de ruminantes.** 2. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2009. p. 216.

KONONOFF, P. J.; HEINRICHS, A. J. BUCKMASTER, D. R. Modification of the Penn State Particle Separator and the effects of moisture content on its measurements. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1858– 1863, 2003.

KRIZSAN, S. J.; AHVENJARVI, S.; VOLDEN, H.; BRODERICK, G. A. Estimation of rumen outflow in dairy cow fed grass silage-based diets by use of reticular sapling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 3, p. 1138-1147, 2010.

KULKARNI, N., SHENDYE, A., RAO, M. 1999. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. **FEMS Microbiol. Rev.**, Amsterdam, v. 23, p. 411-456.

KUOPPALA, K.; RINNE, M.; AHVENJÄRVI, S.; NOUSIAINEN, J.; HUHTANEN, P. The effect of harvesting strategy of grass silage on digestion and nutrient supply in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3253–3263, 2010.

LEEK, B. F. Digestão no estômago de ruminantes. In: Dukes, H. H. **Dukes fisiológicos animais domésticos.** 11. ed. Guanabara Koogan: Swenson & Reece, 1993. cap.21, p. 353-411.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. In: NELSON, D. L.; MICHAEL M.; COX, M. M. (Rev.). São Paulo: Sarvier, 2007. 1100 p.

LUND, P. **The effect of forage type on passage kinetics and digestibility of fibre in dairy cows**. 2002. Thesis (Doctor of Philosophy) - The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark, 2002.

LYNCH, J. P.; O'KIELY, P.; MURPHY, R.; DOYLE, E. M. Changes in chemical composition and digestibility of three maize stover components digested by white-rot fungi. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, n. 4, p. 731– 738, 2013.

MAGALHÃES, A.L.R.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho em dietas para vacas em lactação: desempenho e viabilidade econômica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.1292-1302, 2004.

MAGALHÃES, A. L. R.; CAMPOS, J. M. S.; CABRAL, L. S.; MELLO, R.; FREITAS, J. A.; TORRES, R. A.; VALADARES FILHO, S. C.; ASSIS, A.J. Cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho para vacas em lactação: parâmetros digestivos e ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 591-599, 2006.

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

MEALE, S. J.; BEAUCHEMIN, K. A.; HRISTOV, A. N.; CHAVES, A. V., MCALLISTER, T. A. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 427-442, 2014.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1463-1481, 1997.

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

MERTENS, D. R.; P. HUHTANEN, P. Grass forages: dynamics of digestion in the rumen. In: NEW YORK STATE RUMINANT HEALTH-NUTRITION CONFERENCE, 2007, Syracuse. **Proceedings...** Syracuse, 2007. 20 p.

MEYER, J. H.; LOGFGREEN, J. P. The comparative energy requirements of sheep and cattle for maintenance and gain. **Journal of Animal Science**, v. 18, n. 2, p. 528-547, 1959.

NEUMANN, M. **Efeito do tamanho de partícula e da altura de colheita das plantas de milho (Zeamays L.) sobre perdas, valor nutritivo de silagens e desempenho de novilhos confinados.** 2006, 203p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Curso de Pósgraduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

NSEREKO, V.L., MORGAVI, D.P., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., McALLITER, T.A. 2000. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfafa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro. **Anim Feed Sci Technol**, v.88, n° 3-4, p. 153-170..

NOCEK, J. E. Bovine acidosis: Implications on laminitis. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1005-1028, 1997.

NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7th rev. ed. Washington, DC: Natl. Acad. Sci., 2001. 381 p.

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.; CAMPOS, F. P.; LIMA, M. L. M. Metabolismo de Carboidratos Estruturais. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal: Funep, 2011. p. 193- 238.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 589-596, 1999.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dietary neutral detergent fiber: 1. feeding behavior and nutrient utilization. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1333- 1341, 2000.

OLIVEIRA, A. S.; DETMANN, E.; CAMPOS, J. M. S.; PINA, D. S.; SOUZA, S. M.; COSTA, M. G. Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho de vacas leiteiras em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 7, p. 1587-1595, 2011.

PALOHEIMO, M.; PIIRONEN, J.; VEHMAANPERÄ. Xylanases and cellulases as feed additives. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Ed.). **Enzymes in farmanimal nutrition**. 2nd ed. London, UK, CAB International, 2011, p. 12-53.

PEDROSO, A. de F.; NUSSIO, L. G.; LOURES, D. R. S.; PAZIANI, S. de F.; IGARASI, M. S.; COELHO, R. M.; HORI, J.; RODRIGUES, A. de A. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p.558-6564, 2007.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; LOURES, D. R. S.; PAZIANI, S. F.; RIBEIRO J. L.; MARI, L. J.; ZOPOLLATTO M.; SCHMIDT, P.; MATTOS, W. R. S.; HORII, J. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical and bacterial additives. **Scientia Agricola**, v. 65, p. 567-691, 2008.

PENNSYLVANIA STATE UNIVERSITY – PENN STATE. **From harvest to feed: understanding silage management**. State College: Pennsylvania State University, 2004. 40p.

PHIPPS, R.H.; WELLER, R.F. The development of plant components and their effects on the composition of fresh and ensiled forage maize. 1. The accumulation of dry matter, chemical composition and nutritive value of fresh maize. **Journal Agric. Science.**, v.92, p.471-483, 1979.

POLIZELI, M. L. T., RIZZATTI, A. C. S., MONTI, R., TERENCE, H. F., JORGE, H. F., AMORIM, D. S. 2005. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, Berlin, v. 67, p. 577-591.

PRESTON, T.R. Nutritional limitations associated with the feeding of tropical forages. **Journal Animal Science**, v.54, n.4, p.877-883, 1982.

PRESTON, T.R.; LENG, R.A. La caña de azúcar como alimento para los bovinos. **Revista Mundial de Zootecnia**, n.27, p.7-12, 1978.

PRESTON, R. L. Management of high concentrate diets in the feedlot. Simpósio sobre produção intensiva de gado de corte, 82., 1998, Campinas. **Anais...** São Paulo: CBNA, 1998. 232 P.

RAYBURN, E. B.; FOX, D. G. Variation in neutral detergent fiber intake of holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 544-554, 1993.

ROTH, M.T.P.; REIS, R.A.; RESENDE, F.D.; SIQUEIRA, G.R.; PIRES, A.J.V.; BERTIPAGLIA, L.M.A. Chemical treatment of post-harvest Marandu Grass seed residues with different moisture contents. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.3, p.479-486, 2010.

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, p. 996-1003, 1999.

SUNNA, A. & ANTRANIKIAN, G. 1997.Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria.**C. Review Biotechnology**17(1):39-67.

TOMICH, T.R.; TOMICH, R.G.P.; GONÇALVES, L.C. et al. Valor nutricional de híbridos de sorgo com capim-Sudão em comparação ao det al. volumosos utilizados no período de baixa disponibilidade das pastagens.**Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.6, p.1249-1252, 2006

VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JR., V.R.; CAPPELLE, E.R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 297p.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca, NY.:Comstock Publ. Assoc., 1994.

VAN SOEST, P. J.; MERTENS, D. R.; DEINUM B. Preharvest factors influencing quality of conserved forages. **Journal of Animal Science**, v. 47, p. 712-720, 1978.

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**, v. 26, p. 119-128, 1967.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. **Journal of Association Official Analytical Chemistry**, v. 50, p. 50-55, 1967.

VARGA, G. A.; KOLVER, E. S. Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 819-823, 1997.

WOODFORD, J. A.; JORGENSEN, N. A.; BARRINGTON, G. P. Impact of dietary fiber and physical form on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 1035-1047, 1986.

YANG, W. Z., BEAUCHEMIN, K. A., RODE, L. M. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. **J. Anim. Sci.**, v. 83, p. 2512-2520.

ZEBELI, Q.; ASCHENBACH, J. R.; TAJAJ, M.; BOGUHN, J.; AMETAJ, B. N.; DROCHNER, W. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1041-1056, 2012.