



## Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com enzimas fibrolíticas<sup>1</sup>

Adriana de Souza Martins<sup>2</sup>, Paulo de Figueiredo Vieira<sup>3</sup>, Telma Teresinha Berchielli<sup>4</sup>, Ivanor Nunes do Prado<sup>5</sup>, José Luis Moletta<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Parte da tese de Doutorado em Zootecnia da FCAV/UNESP da primeira autora, financiada pelo CNPq e parcialmente pela FUNDUNESP.

<sup>2</sup> Departamento de Ciências Agrárias do CESCAGE. Av. Carlos Cavalcanti, s/n CEP: 84030-000, Ponta Grossa/PR.

<sup>3</sup> Curso de Zootecnia da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS, Rodovia MG 179, km 0, CEP: 37130-000.

<sup>4</sup> Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP - Rod. Carlos Tonnaní km 5, CEP: 14870-000, Jaboticabal/SP. Pesquisador do CNPq.

<sup>5</sup> Departamento de Zootecnia da UEM - Av. Colombo, 5790, CEP: 87020-900. Pesquisador do CNPq.

<sup>6</sup> IAPAR - Av. Euzébio de Queiroz, s/n CEP: 84032-000, Ponta Grossa/PR.

**RESUMO** - Avaliou-se o efeito da suplementação com enzimas fibrolíticas (celulase e xilanase) sobre o consumo e a digestibilidade aparente total dos nutrientes de dietas compostas de silagem de milho e feno de tifton 85 (*Cynodon* spp.) cortado aos 90 dias. Oito bovinos (340 kg de PV) fistulados no rúmen foram distribuídos em dois quadrados latinos 4 x 4, em esquema fatorial 2 x 2 (fonte de volumoso e adição ou não de enzimas). O complexo enzimático testado foi proveniente de fonte comercial e extraído dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum*, sendo fornecido na quantidade de 12 g/animal/dia, misturado à ração total. Não houve efeito da suplementação enzimática sobre o consumo de nutrientes para ambos os volumosos, porém, a adição de enzimas aumentou a digestibilidade total de FDN, FDA e CEL de 36,87; 36,21 e 46,89%, respectivamente, para 41,19; 40,01 e 50,46%, respectivamente.

Palavras-chave: celulase, feno de tifton, ruminantes, silagem de milho, xilanase

## Intake and apparent total tract digestibility in cattle supplemented with fibrolytic enzymes

**ABSTRACT** - The objective of this trial was to evaluate the effect of feeding fibrolytic enzyme (cellulose and xylanase) on intake and apparent total tract digestibility of nutrients in cattle receiving diets containing corn silage or Tifton 85 hay (*Cynodon* spp.). Eight animals fitted with ruminal cannulae and averaging 340 kg of body weight were randomly assigned to two replicated 4 x 4 Latin squares in a 2 x 2 factorial arrangement of treatments (forage sources with or without fibrolytic enzyme supplementation). The commercial enzymatic complex used, which was extracted from *Aspergillus niger* and *Trichoderma longibrachiatum* fungi was mixed with the forage and concentrate and supplied at a daily amount of 12 g/animal. There was no effect of enzymatic supplementation on nutrient intake for both forage sources. However, the addition of fibrolytic enzymes increased the apparent total tract digestibilities of neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and cellulose from 36.87, 36.21, and 46.89% to 41.19, 40.01, and 50.46%, respectively.

Key Words: cellulase, corn silage, ruminants, tifton hay, xylanase

### Introdução

Nos sistemas de produção de ruminantes, grande parte (40 a 90%) das exigências nutricionais é atendida por meio de volumosos e, em algumas regiões do país, os rebanhos destinados à produção de carne e leite dependem de forragens conservadas para o suprimento de nutrientes durante os períodos de escassez de alimentos.

Segundo Van Soest (1965), o consumo de alimentos é inversamente relacionado ao teor de FDN em dietas com mais de 60% deste nutriente, de modo que a parede celular

é o constituinte da planta que possui maior relação com o consumo voluntário.

O aproveitamento de alimentos fibrosos pelos ruminantes está relacionado à síntese e secreção de enzimas pelos microrganismos do rúmen, promovendo a hidrólise da parede celular das plantas. Entretanto, a conversão dos alimentos, especialmente os fibrosos, para produção de carne e leite tem sido pouco eficiente (Varga & Kolver, 1997), refletindo a necessidade de novos programas biotecnológicos de alimentação animal com o objetivo de maximizar a utilização dos nutrientes.

Estudos envolvendo a aplicação de enzimas fibrolíticas exógenas na alimentação dos ruminantes têm sido cada vez mais explorados (Beauchemin et al., 1999; Hristov et al., 2000). De acordo Newbold (1997), as enzimas fibrolíticas poderiam potencializar a degradação dos polissacarídeos estruturais juntamente com as enzimas produzidas pelos microrganismos do rúmen, estimulando a taxa de degradação da fibra.

A digestibilidade da hemicelulose pode estar associada à composição em monossacarídeos e às ligações com compostos fenólicos, entre eles, os ácidos *p*-cumárico e ferúlico, que poderiam formar ligações entre a hemicelulose e a lignina, dificultando a ação das enzimas digestivas (Besle et al., 1994).

Considerando que nem todos os sítios ativos do substrato disponíveis para a atuação das enzimas microbianas estejam ocupados, o aumento na concentração de enzimas (celulase e xilanase) poderia proporcionar aumento na taxa de digestão da parede celular no rúmen com o auxílio da atividade microbiana (Dehority & Tirabasso, 1998).

McAllister et al. (1999), avaliando o desempenho de novilhos em confinamento, observaram aumentos de 5,99 kg/dia para 6,72 kg/dia na ingestão de MS e de 0,94 kg/dia para 1,16 kg/dia no ganho médio diário com a suplementação enzimática (celulase e xilanase). Lewis et al. (1995), em estudo com vacas em lactação consumindo forragem, também verificaram aumentos de 5 a 25% no consumo e na produção de leite com a adição de enzimas fibrolíticas exógenas na dieta.

O efeito das enzimas fibrolíticas exógenas no intestino delgado tem sido observado por alguns pesquisadores (Hristov et al., 2000), que notaram aumento de 30% na atividade da xilanase no intestino com a suplementação dessas enzimas na dieta dos animais. Além disso, outro efeito observado pelos autores foi a redução da viscosidade intestinal quando fornecidos altos níveis de enzimas, resultando no aumento da absorção de nutrientes no intestino.

Segundo McSweeney et al. (1999), o aumento na digestão da fibra por meio da manipulação microbiana dependeria essencialmente de quatro fatores: do tipo e número de microrganismos que degradam a fibra, da adesão microbiana à fibra, das interações dentro e entre as espécies fibrolíticas e não-fibrolíticas e das enzimas que hidrolisam as ligações químicas na parede celular.

Em virtude de sua alta produtividade e qualidade, o capim-tifton 85 tem sido muito utilizado nos rebanhos nacionais. Apesar dos elevados teores de FDN, por sua composição química, esta gramínea caracteriza-se pela alta digestibilidade. Entretanto, com o avanço da idade fisiológica, ocorre declínio no valor nutritivo, como resultado da redução na relação folha/haste e da transformação da parede

celular, havendo maior participação da celulose e lignina. As limitações no potencial de consumo e digestão de gramíneas de clima tropical ocorrem em função da composição química e da participação percentual de determinados tecidos na haste, além da arquitetura da célula, refletindo diretamente sobre a produtividade na pecuária (Nussio et al., 1998).

O êxito na conservação de gramíneas e leguminosas em forma de silagem depende da quantidade de carboidratos prontamente fermentáveis na forragem. O milho é considerado uma planta ideal para ensilagem por seu alto conteúdo de MS, pela baixa capacidade tampão e pelas adequadas quantidades de açúcares solúveis, satisfatórias para o processo de fermentação láctica, sendo a sacarose, a glicose e a frutose os principais componentes da fração dos açúcares solúveis (Reis & Jobim, 2000).

A estrutura química dos componentes da parede celular (celulose, hemicelulose e lignina) da silagem, seu arranjo molecular e suas ligações com a proteína determinam a acessibilidade da fibra aos microrganismos ruminais, interferindo indiretamente na degradação e no aproveitamento dos nutrientes pelos ruminantes.

Rode et al. (1999) observaram que a adição de celulase e xilanase a uma ração com 24% de silagem de milho não alterou o consumo de MS, mas aumentou substancialmente a digestibilidade total dos nutrientes. Schingoethe et al. (1999) observaram aumento na produção de leite (10,8%) e no teor de gordura e proteína do leite (20 e 13%, respectivamente) com a adição de enzimas fibrolíticas (celulase e xilanase) em dietas contendo silagem de milho.

Embora as formulações de complexos enzimáticos, como os extraídos do fungo *Trichoderma* spp., melhorem a digestão dos alimentos em animais ruminantes (Morgavi et al., 2000), Firkins et al. (1990) relataram que o modo de ação destes complexos ainda não foi definido, visto que as condições de aplicação desta tecnologia variam consideravelmente e os resultados nem sempre são positivos.

O objetivo neste estudo foi avaliar o efeito de enzimas fibrolíticas exógenas extraídas dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum* sobre o consumo e as digestibilidades aparentes total e parcial de dietas compostas de silagem de milho e feno de tifton 85 (*Cynodon* spp.) em bovinos.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Avaliação de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –Campus de Jaboticabal/UNESP-SP no período de novembro de 2001 a fevereiro de 2002. Estudou-se o efeito da adição de enzimas fibrolíticas

exógenas sobre o consumo e a digestibilidade total de MS, PB, MO, EB, FDN, FDA, CEL e HEM de dietas compostas de silagem de milho e feno de tifton 85.

Foram testadas as seguintes dietas: SMSE - silagem de milho sem adição de enzimas fibrolíticas; SMCE - silagem de milho com a adição de enzimas fibrolíticas; FESE - feno de tifton 85 sem a adição de enzimas fibrolíticas; FECE - feno de tifton 85 com a adição de enzimas fibrolíticas.

As dietas foram formuladas com base na ingestão de energia metabolizável fermentável e de proteína degradável no rúmen, segundo recomendações do AFRC (1995). O concentrado das dietas foi composto de milho e levedura e as dietas foram fornecidas de modo a proporcionar aproximadamente 10% de sobras.

A composição química dos ingredientes das dietas encontra-se na Tabela 1.

A dieta total (volumoso + concentrado) foi fornecida pela manhã (8h) e à tarde (15h). Também foi fornecido diariamente suplemento mineral e vitamínico (40 g), misturado à ração antes da alimentação.

As enzimas fibrolíticas utilizadas foram provenientes de fonte comercial (Fibrozyme - ALLTECH - Empresa Biotecnológica de Produção Animal) e extraídas dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum*. O produto foi composto de celulase e xilanase e de um surfactante (extrato de *Yucca echinacea*), veículo que tem a função de aumentar o contato das enzimas com o substrato.

A atividade enzimática do Fibrozyme, obtida em temperatura de 39°C e pH 4,0, foi de aproximadamente 100 unidades de xilanase (UX) por grama do produto comercial, que corresponde à quantidade de enzima requerida para liberar um micromol de xilana. O substrato utilizado para determinação da atividade enzimática foi a xilana extraída do trigo. O complexo enzimático apresentou 90,21% de MS, 4,17% de nitrogênio total, 20,64 de FDN, 12,3% de FDA e 10,38% de HEM e foi fornecido duas vezes (12 g/animal/dia, conforme recomendação do fabricante) misturado ao suplemento mineral, junto com a ração total. A composição química das dietas encontra-se na Tabela 2.

Tabela 1 - Composição química (% na MS) dos ingredientes das dietas

Table 1 - Chemical composition of dietary ingredients (% of DM)

Ingrediente <i>Ingredient</i>	MS <i>DM</i>	MO <i>OM</i>	PB <i>CP</i>	FDN <i>NDF</i>	FDA <i>ADF</i>	Celulose <i>Cellulose</i>	Hemicelulose <i>Hemicellulose</i>	Lignina <i>Lignin</i>
Silagem de milho ( <i>Corn silage</i> )	40,49	87,74	7,23	52,48	25,80	21,01	26,68	4,79
Feno de tifton 85 <sup>1</sup> ( <i>Tifton 85 hay</i> )	88,53	82,34	6,28	79,20	42,10	33,80	37,10	8,30
Milho ( <i>Corn</i> )	89,57	88,01	10,00	16,38	5,16	3,61	11,22	1,55
Levedura ( <i>Yeast</i> )	92,98	89,05	43,33	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> Coletado aos 90 dias de rebrota.

<sup>1</sup> Cut at 90 days of age.

Tabela 2 - Composição química das dietas (%MS)

Table 2 - Chemical composition of the diets (% DM)

Ingrediente <i>Ingredient</i>	Dieta (%MS) <i>Diet (%DM)</i>			
	SMSE <sup>1</sup> ( <i>CS</i> )	SMCE <sup>2</sup> ( <i>CSFE</i> )	FESE <sup>3</sup> ( <i>TH</i> )	FECE <sup>4</sup> ( <i>THFE</i> )
Silagem de milho ( <i>Corn silage</i> )	69,93	69,92	-	-
Feno de tifton 85 ( <i>Tifton 85 hay</i> )	-	-	68,47	68,50
Milho ( <i>Corn</i> )	20,74	20,73	20,80	20,78
Levedura ( <i>Yeast</i> )	8,85	8,86	10,25	10,22
Enzimas fibrolíticas ( <i>Fibrolytic enzymes</i> )	-	0,13	-	0,13
Suplemento mineral ( <i>Mineral salt</i> )	0,50	0,51	0,50	0,51
Nutriente <i>Nutrient</i>				
MS ( <i>DM</i> )	48,48	48,57	89,22	89,25
MO ( <i>OM</i> )	87,46	87,42	83,77	83,74
PB ( <i>CP</i> )	10,93	10,95	10,83	10,82
FDN ( <i>NDF</i> )	40,32	40,21	57,85	57,83
FDA ( <i>ADF</i> )	19,17	19,12	29,96	29,94
Celulose ( <i>Cellulose</i> )	15,58	15,53	24,04	24,03
Hemicelulose ( <i>Hemicellulose</i> )	21,15	21,09	27,89	27,88

<sup>1</sup>Silagem de milho sem enzimas fibrolíticas; <sup>2</sup>Silagem de milho com enzimas fibrolíticas; <sup>3</sup>Feno de tifton sem enzimas fibrolíticas; <sup>4</sup>Feno de tifton com enzimas fibrolíticas.

<sup>1</sup>Corn silage without fibrolytic enzymes; <sup>2</sup>Corn silage with fibrolytic enzymes; <sup>3</sup>Tifton hay without fibrolytic enzymes; <sup>4</sup>Tifton hay with fibrolytic enzymes.

Foram utilizados oito bovinos com peso vivo médio de 340 kg, providos de cânula no rúmen. O experimento foi dividido em quatro períodos de 21 dias, sendo 14 de adaptação dos animais às dietas e sete para coleta de amostras. Durante o período de adaptação, os animais foram mantidos em baias individuais cobertas contendo comedouro e bebedouro e, no período de coleta de dados, foram alojados em gaiolas com piso ripado de madeira, providas de bandeja para coleta fezes e de comedouro e bebedouro apropriados.

O consumo de alimentos foi determinado por meio de pesagens diárias das sobras dos dias anteriores. As amostras (10%) de sobras e dos alimentos que constituíram as dietas foram acondicionadas em sacos plásticos e identificadas por tratamento e por período e armazenadas a -20°C.

As fezes foram recolhidas das bandejas diariamente às 7h30 e também foram pesadas, homogeneizadas e amostradas por animal e por período, sendo congeladas a -20°C.

No final do experimento, as amostras dos alimentos, das sobras e das fezes foram descongeladas e secas em estufa a 55°C durante 72 horas, sendo moídas e misturadas em proporções iguais, com base no peso seco, para formar amostras compostas (por animal e por período).

Foram determinados os teores de MS, MO e cinzas, de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (1990); os de FDN, FDA, celulose, hemicelulose e lignina, conforme descrito por Van Soest et al. (1991); os de EB, por meio de

bomba calorimétrica adiabática (PARR); e os de PB, pelo método de combustão de Dumas, utilizando-se o analisador automático de proteínas (Leco 528LC).

O delineamento experimental constituiu-se de dois quadrados latinos 4 x 4, em esquema fatorial 2 x 2. Os dados foram analisados com base nos efeitos principais fonte de volumoso (feno e silagem de milho) e de níveis de adição do complexo enzimático (0 e 12 g/animal/dia), bem como nas suas interações. A análise de variância e a comparação de médias pelo teste Tukey, a 5% de significância, foram feitas pelo PROC GLM do SAS (1985).

## Resultados e Discussão

Conforme descrito na Tabela 3, não houve efeito da interação fontes de volumosos x níveis de enzima utilizados sobre o consumo médio diário de nutrientes ( $P > 0,05$ ). A fonte de volumoso, no entanto, influenciou o consumo de nutrientes ( $P < 0,05$ ), visto que os animais alimentados com feno de tifton 85 apresentaram menores consumos de MS, PB, MO, EB e CMS/PV e maiores de FDA e CEL em comparação àqueles que consumiram silagem de milho, provavelmente em razão do maior conteúdo de fibra das dietas compostas de feno (Tabela 2).

Segundo Van Soest (1965), o consumo de alimentos estaria inversamente relacionado ao teor de FDN em dietas com mais de 60% de FDN. O consumo de MS (6,01 kg/dia) observado neste estudo foi próximo ao obtido por Prado et

Tabela 3 - Consumo médio diário de MS (CMS), MO (CMO), PB (CPB), EB (CEB), FDN (CFDN), FDA (CFDA), celulose (CCEL) e hemicelulose (CHEM), consumo de MS em relação ao peso vivo (CMS/PV) e consumo de FDN em relação ao peso vivo (CFDN/PV) das dietas experimentais

Table 3 - Mean daily intake of DM (DMI), OM (OMI), CP (CPI), GE (GEI), NDF (NDFI), ADF (ADFI), cellulose (CELI), hemicellulose (HEMI), DM intake/body weight (DMI/BW), and NDF intake/body weight (NDFI/BW) of experimental diets

Item	Fonte de volumoso Forage source				Média Mean			
	SM CS		FE TH		Volumoso Forage		Enzima Enzyme	
	SE -E	CE +E	SE -E	CE +E	SM CS	FE TH	SE -E	CE +E
CMS (kg MS/dia) (DMI, kg DM/day)	6,01	6,06	4,52	4,90	6,03A	4,71B	5,27a	5,47a
CMO (kg MS/dia) (OMI, kg DM/day)	5,25	5,29	3,76	4,08	5,27A	3,92B	4,50a	4,68a
CPB (kg MS/dia) (CPI, kg DM/day)	0,68	0,68	0,52	0,55	0,68A	0,53B	0,60a	0,61a
CEB (Mcal/kg) (GEI, Mcal/kg)	0,26	0,27	0,20	0,21	0,26A	0,20B	0,23a	0,24a
CFDN (kg MS/dia) (NDFI, kg DM/day)	2,28	2,36	2,44	2,73	2,32A	2,58A	2,36a	2,55a
CFDA (kg MS/dia) (ADFI, kg DM/day)	1,13	1,15	1,26	1,41	1,14B	1,34A	1,20a	1,28a
CCEL (kg MS/dia) (CELI, kg DM/day)	0,93	0,95	1,00	1,13	0,93B	1,07A	0,97a	1,03a
CHEM (kg MS/dia) (HEMI, kg DM/day)	1,15	1,20	1,17	1,32	1,18A	1,24A	1,16a	1,26a
CMS/PV (DMI/BW)	1,74	1,77	1,31	1,42	1,76A	1,37B	1,53a	1,59a
CFDN/PV (NDFI/BW)	0,67	0,70	0,72	0,80	0,69A	0,76A	0,70a	0,75a

SM = silagem de milho; FE = feno de tifton; SE = sem enzimas; CE = com enzimas. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, maiúscula para as fontes de volumoso (silagem de milho e feno de tifton) e minúscula para os níveis de enzima (0 e 12 g/animal/dia), diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey. CS = corn silage; TH = Tifton hay; -E = without enzyme; +E = with enzyme. Means followed by different letters in the same row, capital letters for forage (corn silage and Tifton hay) source and small letters for enzyme level (0 and 12 g/animal/day), differ ( $P < 0,05$ ) by Tukey test.

al. (2000) (6,9 kg/dia), que avaliaram o desempenho de animais alimentados com dietas compostas de silagem de milho, levedura e milho.

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da adição de enzimas fibrolíticas sobre o consumo de nutrientes de ambas as fontes de volumoso. Rode et al. (1999), avaliando o efeito da suplementação com enzimas fibrolíticas em vacas alimentadas com 24% de silagem de milho, 15% de alfafa e 61% de concentrado (cevada em grão), também não observaram efeito da adição das enzimas sobre o consumo de nutrientes. Dhiman et al. (2002) também não notaram efeito da adição de celulasas e xilanases sobre a ingestão de MS em animais recebendo dieta com 46% de volumoso constituído de 23% de silagem de milho. Por outro lado, Lewis et al. (1999), avaliando uma dieta para vacas em lactação com relação volumoso (feno e silagem de alfafa):concentrado de 40:60, registraram maior ingestão de MS quando adicionaram enzimas fibrolíticas. De acordo com Yang et al. (1999), o aumento no consumo de nutrientes com a adição de enzimas estaria relacionado à elevação da taxa de passagem das partículas e ao menor tempo de retenção ruminal. Esses autores, ao fornecerem uma dieta com 43% de feno de alfafa (inferior à porcentagem testada neste estudo - 68,5%), também não observaram efeito da adição de enzimas ao feno sobre a ingestão de MS.

McAllister et al. (2001) relataram que a maioria dos compostos enzimáticos promoveu liberação de açúcares redutores no primeiro contato com o substrato e que o potencial de liberação destes açúcares dependeu do tipo de alimento utilizado e do complexo enzimático testado.

Entretanto, segundo esses autores, a quantidade de carboidratos solúveis liberados do alimento com a ação enzimática representaria apenas uma pequena porção dos carboidratos presentes na dieta.

Na Tabela 4 encontram-se os coeficientes de digestibilidade aparente total dos nutrientes das dietas formuladas com e sem adição das enzimas fibrolíticas.

Não houve efeito das interações fonte de volumoso  $\times$  nível de enzimas sobre os coeficientes de digestibilidade total da MS, PB, MO, FDN, FDA, CEL e HEM ( $P>0,05$ ).

As dietas com silagem de milho, em comparação àquelas com feno de tifton, apresentaram maior digestibilidade total de MS, MO, FDN, FDA, CEL e HEM ( $P<0,05$ ), provavelmente em razão do maior teor de fibra do feno (Tabela 2), pois esse carboidrato contribui significativamente para a redução na digestibilidade dos nutrientes.

As dietas com silagem de milho apresentaram coeficiente de digestibilidade aparente total da MS (DMS) superior ao encontrado por Fregadolli et al. (2001), de 60,20%, utilizando dietas compostas de silagem de milho, milho e levedura. Por outro lado, as digestibilidades totais de PB e FDN observadas por esses autores (57,20 e 40,2%, respectivamente) foram semelhantes às obtidas neste trabalho.

A adição de enzimas aumentou ( $P<0,05$ ) a digestibilidade dos constituintes da parede celular. Pesquisas têm mostrado que a suplementação com enzimas exógenas (celulase e hemicelulase) promove o aumento da atividade da celulase e xilanase no rúmen (Hristov et al., 2000; Morgavi et al., 2000). Krause et al. (1998) verificaram que a adição de enzimas fibrolíticas à dieta alterou a composição química do

Tabela 4 - Coeficientes de digestibilidade total da MS (DMS), MO (DMO), PB (DPB), FDN (DFDN), FDA (DFDA), CEL (DCEL) e HEM (DHEM) das dietas experimentais

Table 4 - Apparent total tract digestibilities of DM (DMD), OM (OMD), CP (CPD), NDF (NDFD), ADF (ADFD), CEL (CELD) and HEM (HEMD) of the experimental diets

Digestibilidade (%) Digestibility (%)	Fonte de volumoso Forage source				Média Mean			
	SM CS		FE TH		Volumoso Forage		Enzima Enzyme	
	SE -E	CE +E	SE -E	CE +E	SM CS	FE TH	SE -E	CE +E
DMS (DMD)	65,48	65,81	50,98	54,11	65,45A	52,55B	58,23a	59,77a
DMO (OMD)	66,49	66,92	49,39	52,73	66,52A	51,06B	57,94a	59,64a
DPB (CPD)	57,43	55,57	55,16	53,58	56,60A	54,37A	56,29a	54,68a
DFDN (NDFD)	41,77	42,81	31,49	39,20	42,45A	35,61B	36,87b	41,19a
DFDA (ADFD)	40,92	41,04	33,59	38,80	40,16A	36,06B	36,21b	40,01a
DCEL (CELD)	50,11	51,59	43,00	50,03	50,50A	46,85B	46,89b	50,46a
DHEM (HEMD)	46,95	46,76	33,76	37,99	47,36A	36,29B	41,09a	42,55a

SM = silagem de milho; FE = feno de tifton; SE = sem enzimas; CE = com enzimas. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, maiúscula para as fontes de volumoso (silagem de milho e feno de tifton) e minúsculas para os níveis de enzima (0 e 12 g/animal/dia), diferem ( $P<0,05$ ) pelo teste Tukey. CS = corn silage; TH = Tifton hay; -E = without enzyme; +E = with enzyme. Means followed by different letters in the same row, capital for forage (corn silage and Tifton hay) source and small letters for enzyme level (0 and 12 g/animal/day), differ ( $P<0,05$ ) by Tukey test.

volumoso, reduzindo os teores de FDN e FDA. Entretanto, o produto utilizado foi diluído em água e aplicado ao alimento um dia antes do fornecimento aos animais.

Beauchemin et al. (1999), avaliando dietas compostas de silagem de cevada e cevada em grão, verificaram aumento de 58,8 para 61,7% na digestibilidade total da FDN com a adição de enzimas, mas não notaram efeito sobre o consumo e a digestão ruminal dos nutrientes.

Morgavi et al. (2000), avaliando o efeito da combinação de enzimas microbianas e extraídas do fungo *Trichoderma longibrachiatum* na degradação da silagem de milho, observaram que a complexidade da estrutura química da silagem de milho causou variações nas respostas com a combinação destas misturas enzimáticas. Segundo esses autores, a celulase seria mais limitante na degradação da fibra da silagem de milho que a xilanase.

Neste trabalho, não houve efeito de interação enzimas  $\times$  fonte de volumoso (feno ou silagem). Resultados obtidos em alguns trabalhos comprovaram que a aplicação de enzimas exógenas poderia ser mais efetiva na forragem seca (30% de umidade) que naquela com alto teor de umidade (70% de umidade) (Feng et al., 1996; Beauchemin et al., 1997, citados por McAllister et al., 2001). Entretanto, esses resultados parecem improváveis, pois a água exerce papel fundamental sobre a hidrólise dos açúcares solúveis. Dessa forma, segundo McAllister et al. (2001), a liberação de açúcares provenientes dos alimentos denominados “secos” sugeriu que seu conteúdo em água seria suficiente para promover a hidrólise.

O elevado teor de fibra das dietas compostas de feno constituiu maior quantidade de substrato disponível para a atuação das enzimas fibrolíticas. Sabe-se que a digestão da parede celular pelos microrganismos ruminais ocorre preferencialmente do lúmen da célula em direção à parede primária, por difusão passiva, e que, de acordo com Wilson & Mertens (1995), a digestão da fibra seria limitada em alguns tecidos da planta (esclerênquima), em decorrência da lenta entrada das bactérias para o interior da célula. Portanto, neste estudo, as enzimas podem ter agido sobre as partículas de fibra do feno, facilitando a movimentação das bactérias para o interior da célula e aumentando a digestão da parede celular.

Caton et al. (1993), em estudo com animais pastejando uma gramínea de clima temperado (*Bromus inermis*), observaram aumentos de 59,1 para 67,3% na digestibilidade total da MO e de 56,6 para 61,4% na de FDN, com a suplementação de 2 g de extrato de *Aspergillus niger*/animal/dia. Os autores verificaram ainda que o efeito da utilização do extrato sobre a digestibilidade dos nutrientes pareceu diminuir na estação em que a qualidade da pasta-

gem foi melhor. Da mesma forma, Yang et al. (1999) encontraram aumento da digestibilidade da MO (64,4 para 66,5%) e da FDN (38,8 para 42,4%) de dietas contendo 43% de feno de alfafa com a adição de 1 g de uma mistura enzimática (celulase, xilanase)/kg de MS. Além disso, como verificado neste trabalho, estes autores também não observaram efeito da adição de enzimas sobre a digestibilidade total da PB.

Houve influência da interação fonte de volumoso  $\times$  nível de enzima utilizado ( $P < 0,05$ ) sobre a digestibilidade aparente da EB (Tabela 5).

A adição de enzimas à silagem de milho não alterou ( $P > 0,05$ ) a digestibilidade aparente da EB, mas, quando a fonte de volumoso testada foi o feno de tifton, houve aumento ( $P < 0,05$ ) da DEB com a adição do complexo enzimático, provavelmente em razão das diferenças na composição química dos volumosos e, conseqüentemente, na atividade hidrolítica das enzimas exógenas no substrato. Neste sentido, a dieta contendo feno de tifton, por apresentar maior proporção de parede celular, em comparação à silagem de milho, pode ter disponibilizado mais sítios ativos do substrato para a atuação das enzimas testadas, ocorrendo maior liberação de carboidratos solúveis e contribuindo para o aumento da digestibilidade da energia.

A silagem de milho, em comparação ao feno de tifton, apresentou maior digestibilidade da EB ( $P < 0,05$ ), provavelmente conseqüência do processo pré-fermentativo no silo e do menor teor de fibra.

De acordo com Yang et al. (1999), as variações no modo de ação das enzimas podem ser atribuídas às diferenças na composição dos complexos enzimáticos comerciais ou à composição da dieta ou do tipo de alimento utilizado. Além disso, segundo Morgavi et al. (2000), a formulação dos complexos enzimáticos comerciais é normalmente padroni-

Tabela 5 - Efeito da interação fontes de volumoso  $\times$  níveis de enzima sobre a digestibilidade aparente total da EB (DEB)

Table 5 - Effect of forage source  $\times$  enzyme levels interaction on apparent total tract digestibility of GE

Fonte de volumoso <i>Forage source</i>	Nível de enzima <i>Enzyme level</i>	
	Sem enzimas <i>Without enzymes</i>	Com enzimas <sup>1</sup> <i>With enzymes</i>
Silagem de milho <i>Corn silage</i>	64,67aA	64,69aA
Feno de tifton 85 <i>Tifton 85 hay</i>	49,64bB	52,98aB

<sup>1</sup> Adição de 12 g/animal/dia. Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

<sup>1</sup> Addition of 12 g/animal/day. Means followed by different letters, small letters in the row and capital letters in the column, differ ( $P < 0,05$ ) by Tukey test.

zada em função de sua capacidade em degradar a celulose ou xilana. Entretanto, estes produtos constituem compostos multienzimáticos que desempenham diferentes atividades hidrolíticas. Portanto, não há controle de qualidade sobre as outras enzimas, consideradas complemento, que poderiam interferir no desempenho de um complexo enzimático.

### Conclusões

A adição de enzimas fibrolíticas em dietas compostas de silagem de milho e feno de tifton 85 não teve efeito sobre o consumo dos nutrientes, mas causou aumento na digestibilidade dos constituintes da parede celular de ambos os volumosos.

### Literatura Citada

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Technical committee on responses to nutrients: energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB International, 1995. 159p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Arlington, 1990. 1298p.
- BEAUCHEMIN, K.A.; YANG, W.Z.; RODE, L.M. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.378-390, 1999.
- BESLE, J.M.; CORNU, A.; JOUANY, J.P. Roles of structural phenylpropanoids in forage cell wall digestion. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.64, p.171-190, 1994.
- CATON, J.S.; ERICKSON, D.O.; CAREY, D.A. et al. Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on forage intake, site of digestion, in situ degradability, and duodenal amino acid flow in steers grazing cool-season pasture. **Journal of Animal Science**, v.71, p.779-787, 1993.
- DEHORITY, B.A.; TIRABASSO, P.A. Effect of ruminal cellulolytic bacterial concentrations on *in situ* digestion of forage cellulose. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2905-2911, 1998.
- DHIMAN, T.R.; NSEREKO, V.L.; MORGAVI, D.P. et al. Performance of dairy cows fed forage treated with fibrolytic enzyme prior to feeding. **Animal Feed Science and Technology**, v.101, p.115-125, 2002.
- FIRKINS, H.J.; RODE, K.A.; McALLISTER, T.A. et al. Effects of feeding fungal culture extract and animal-vegetable fat on degradation of hemicellulose and on ruminal bacterial growth in heifers. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.1812-1822, 1990 (supl. 1).
- FREGADOLLI, F.L.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. et al. Efeito das fontes de amido e nitrogênio de diferentes degradabilidades ruminais. 1. Digestibilidades parcial e total. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.858-869, 2001.
- HRISTOV, A.N.; McALLISTER, T.A.; CHENG, K.-J. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: effects on nutrient digestion in cattle fed barley grain diets. **Journal of Animal Science**, v.78, p.477-487, 2000.
- KRAUSE, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. et al. Fibrolytic enzyme treatment of barley grain and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2912-2920, 1998.
- LEWIS, G.E.; SANCHEZ, W.K.; HUNT, C.W. et al. Effect of fibrolytic enzymes on lactational performance in mid-lactation Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v.73, p.341 (Abstr.), 1995 (suppl.1).
- LEWIS, G.E.; HUNT, C.W.; SANCHEZ, W.K. et al. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.611-617, 1999.
- McALLISTER, T.A.; OOSTING, S.J.; POPP, J.D. et al. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, p.353-360, 1999.
- McALLISTER, T.A.; HRISTOV, A.N.; BEAUCHEMIN, K.A. et al. Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Eds.) **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxon: Cab International, 2001. p.273-297.
- McSWEENEY, C.S.; DALRYMPLE, B.P.; GOBIUS, K.S. et al. The application of rumen biotechnology to improve the nutritive value of fibrous feedstuffs: pre- and post-ingestion. **Livestock Production Science**, v.59, p.265-2283, 1999.
- MORGAVI, D.P.; BEAUCHEMIN, K.A.; NSEREKO, V.L. et al. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1310-1321, 2000.
- NEWBOLD, J. Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 16., 1997, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: 1997. p.3-17.
- NUSSIO, L.G.; MANZANO, R.P.; PEDREIRA, C.G.S. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. In: MANEJO DE PASTAGEM DE TIFTON, COASTCROSS E ESTRELA, 15., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1998. p.203-239.
- PRADO, I.N.; MARTINS, A.S.; ALCALDE, C.R. et al. Desempenho de novilhas alimentadas com rações contendo milho ou casca de mandioca como fonte energética e farelo de algodão e levedura como fonte protéica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.278-287, 2000.
- REIS, R.A.; JOBIM, C.C. Perfil da fração de carboidratos da planta e adequação de aditivos no processo de ensilagem. In: WORKSHOP SOBRE MILHO PARA SILAGEM, 2., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2000. p.27-52.
- RODE, L.M.; YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A. Fibrolytic enzyme supplemented for dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2121-2126, 1999.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **Users' guide: statistics**. 5 ed. Cary: 1985. v.1, 956p.
- 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.
- Van SOEST, P.J. Symposium on factors influencing the voluntary intake by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, v.24, p.834-843, 1965.
- VARGA, G.A.; KOLVER, E.S. Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. **Journal of Nutrition**, v.127, p.819-823, 1997.
- WILSON, J.R.; MERTENS, D.R. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. **Crop Science**, v.35, p.251-259, 1995.
- YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.391-403, 1999.