



Cinética ruminal da degradação de nutrientes da silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com diferentes aditivos¹

Pedro Andrade Katsuki², Ivone Yurika Mizubuti³, Elzânia Sales Pereira³, Bruno Mazzer de Oliveira Ramos², Edson Luis de Azambuja Ribeiro³, Fernanda Barros Moreira³, Marco Antonio da Rocha³, Andréa Pereira Pinto², Teresa Cristina Alves⁴

¹ Projeto financiado pelo CNPq. Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor.

² Doutorando em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

³ Docente do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da UEL.

⁴ Mestrando em Zootecnia, USP.

RESUMO - Objetivou-se avaliar a cinética ruminal da degradação de MS, PB e FDN da silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com diferentes aditivos. Utilizou-se um delineamento em quadrado latino 4 x 4, com quatro bovinos holandeses e quatro períodos de incubação, em ambiente ruminal adaptado ou não com diferentes aditivos alimentares. Foram testados os seguintes tratamentos: SCL - silagem de milho em ambiente ruminal sem inoculação de aditivo; SBL - silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com 5 g de produto comercial contendo bactérias ruminais e intestinais liofilizadas (*Ruminobacter amylophilum*: $3,0 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Fibrobacter succinogenes*: $3,0 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Succinovibrio dextrinsolvens*: $4,4 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Bacillus cereus*: $3,5 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Lactobacillus acidophilus*: $3,5 \times 10^{11}$ ufc/kg e *Streptococcus faecium*: $3,5 \times 10^{11}$ ufc/kg); SEC - silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com 15 g de produto comercial contendo enzimas celulolíticas (xilanase 10%); e SMS - silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com 3 g de produto comercial contendo monensina sódica. Os tratamentos SBL e SEC não afetaram a fração potencialmente degradável (b) dos nutrientes avaliados da silagem de milho. A monensina sódica reduziu a fração (b) da MS (51,01%) e a degradabilidade potencial da silagem de milho (72,33%). Entre os aditivos estudados, a monensina sódica proporcionou a maior fração não-degradável da FDN (45,57%), reduzindo o desaparecimento desta fração a partir de 48 horas de incubação intra-ruminal. Os diferentes aditivos, nas concentrações estudadas, não proporcionaram melhora na degradabilidade efetiva da MS, PB e FDN da silagem de milho.

Palavras-chave: bactérias liofilizadas, degradabilidade, enzimas celulolíticas, monensina sódica

Ruminal degradation kinetics of corn silage in bulls inoculated with different additives in the rumen

ABSTRACT - Four bulls fitted with ruminal cannula were used in a 4 x 4 Latin square design to evaluate the effects of different ruminally inoculated additives on the degradation kinetics of DM, CP, and NDF of corn silage (CS). The treatments were: control - CS incubated in rumen with no additive; LB - CS incubated in rumen inoculated with five grams of dehydrated and lyophilized ruminal and intestinal bacteria (*Ruminobacter amylophilum*: 3.0×10^{11} ufc/kg; *Fibrobacter succinogenes*: 3.0×10^{11} ufc/kg; *Succinovibrio dextrinsolvens*: 4.4×10^{11} ufc/kg; *Bacillus cereus*: 3.5×10^{11} ufc/kg; *Lactobacillus acidophilus*: 3.5×10^{11} ufc/kg and *Streptococcus faecium*: 3.5×10^{11} ufc/kg); CE - CS incubated in rumen inoculated with 15 grams of cellulolytic enzymes (xylanase; 10%); and SM - CS incubated in rumen inoculated with three milligrams of sodium monensin. The LB and CE treatments did not affect the potentially degradable "b" fraction of CS nutrients. However, the SM treatment reduced the DM "b" fraction (51.01%) and the potential degradability of CS (72.33%). Use of SM resulted in the greatest NDF indigestible fraction reducing NDF disappearance after 48 hours of ruminal incubation. It can be concluded that the different additives did not improve the effective degradability of CS DM, CP, and NDF.

Key Words: cellulolytic enzymes, degradability, lyophilized bacteria, sodium monensin

Introdução

Nos trópicos, a existência de duas estações distintas (águas e seca) determina a abundância na produção de MS em uma época e escassez extrema em outra, o que limita o

desempenho do rebanho pela falta de oferta de alimentos na época seca do ano. O armazenamento do excesso de forragem na época das águas para ser utilizado no período da seca constitui-se em alternativa na atividade pecuária. Nessas instâncias, a ensilagem é ferramenta fundamental

na conservação de alimentos, principalmente no Brasil, onde a fenação é limitada por variáveis climáticas. Entretanto, o valor nutricional do produto final é função, além das técnicas de ensilagem, da qualidade do material ensilado. Normalmente, a adequação de dietas é feita considerando-se a composição química dos alimentos descrita em tabelas. No caso da silagem de milho, esta estratégia pode conduzir a sérios equívocos, pois a porcentagem de grãos não é constante. Nos diferentes sistemas de produção animal, em confinamento ou não, o principal volumoso utilizado é a silagem de milho, de sorgo ou de gramíneas. A silagem de milho possui boas características nutricionais e seu valor nutricional depende das técnicas de ensilagem, da qualidade do material ensilado e da proporção de grãos (Harrison et al., 1996; Nussio & Manzano, 1999).

A melhoria na utilização de volumosos pelos ruminantes pode ser obtida por meio de tratamentos físicos e químicos (Mpofu & Ndlovu, 1994), de suplementação dietética que atende os requerimentos de microrganismos fibrolíticos (Leng, 1993) e pelo uso de aditivos microbianos que favoreçam a digestão dos componentes fibrosos dos alimentos (Newbold et al., 1995). O uso de aditivos microbianos tem sido objeto de interesse para maximização da degradação da parede celular dos alimentos. Entretanto, os resultados disponíveis na literatura são inconsistentes, em virtude da grande variação no nível de adição, nas espécies de microrganismos, nas dietas e nos tipos de aditivos microbianos utilizados (Martin & Nisbet, 1992). Entre esses aditivos, destacam-se os ionóforos, as enzimas celulolíticas e as bactérias ruminais liofilizadas. A utilização destes suplementos microbianos dietéticos promove melhoria no desempenho produtivo, possivelmente em razão de seus efeitos nos processos digestivos, da degradação da parede celular, da manutenção de níveis adequados de amônia no rúmen e da estabilização do pH ruminal (Huhtanen & Khalili, 1991; Yoon & Stern, 1995; Doreau & Jouany, 1998). Supõe-se ainda que a manipulação de enzimas fibrolíticas aumente a taxa e a extensão da digestão de forragem pelos ruminantes (Forsberg, 1995; Lewis et al., 1996).

Produtos compostos de microbiota ruminal e intestinal desidratada também têm sido estudados. Os microrganismos são mantidos vivos, em estado latente, e, quando adicionados à alimentação, podem proporcionar maior consumo de alimentos e melhor desempenho dos animais. Resultados positivos sobre o desempenho produtivo, o desenvolvimento e a economicidade com a adição de microbiota ruminal foram observados por Miranda et al. (1999) em novilhas leiteiras. Porém, poucas informações

estão disponíveis na literatura sobre os efeitos destes aditivos na degradação dos nutrientes, especialmente os efeitos das enzimas fibrolíticas e das bactérias ruminais e intestinais liofilizadas.

Este estudo foi realizado com objetivo de avaliar o efeito da inoculação ruminal com diferentes aditivos sobre a degradação da MS, PB e FDN da silagem de milho no rúmen.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Para determinação da degradação da MS, PB e FDN da silagem de milho, utilizaram-se quatro bovinos holandeses (machos castrados) fistulados no rúmen, pesando em média 700 kg. Os animais foram mantidos em pastagem de *coastcross* e receberam suplementação com silagem de milho (25,0 kg/animal/dia) durante todo o período experimental. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, com quatro animais, quatro períodos de incubação e quatro tratamentos. Para cada período experimental, foram utilizados dez dias de adaptação e seis para incubação, totalizando 16 dias em cada período experimental. Os produtos comerciais contendo os aditivos foram inoculados diariamente, nas dosagens indicadas pelos fabricantes, diretamente no rúmen, através da cânula ruminal.

Foram utilizados os seguintes tratamentos: SCL - silagem de milho em ambiente ruminal sem inoculação de aditivo; SBL - silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com 5 g de produto comercial contendo bactérias ruminais e intestinais desidratadas e liofilizadas (*Ruminobacter amylophilum*: $3,0 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Fibrobacter succinogenes*: $3,0 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Succinovibrio dextrinsolvens*: $4,4 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Bacillus cereus*: $3,5 \times 10^{11}$ ufc/kg; *Lactobacillus acidophilus*: $3,5 \times 10^{11}$ ufc/kg; e *Streptococcus faecium*: $3,5 \times 10^{11}$ ufc/kg); SEC - silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com 15 g de produto comercial contendo enzimas celulolíticas (xilase, 10%); SMS - silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com 3 g de produto comercial contendo monensina sódica (10%).

As amostras de silagem de milho para compor os diferentes tratamentos foram secas em estufa de circulação forçada a $55 \pm 5^\circ\text{C}$ por 48 horas e moídas em peneiras de 5 mm. As amostras dos diferentes tratamentos foram pesadas, acondicionadas (aproximadamente 7 g de MS) em sacos de náilon (4 x 7 cm) com abertura de 50 μm e incubadas na parte ventral do rúmen de cada animal durante 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 144 horas.

Depois de cada período de incubação, os sacos foram lavados em água corrente e submetidos à secagem em estufa de 55°C por um período de 24 horas. Finalmente, os sacos foram colocados em dessecador até o completo resfriamento, sendo pesados novamente. Os sacos referentes ao tempo zero utilizados para determinação da fração solúvel foram lavados em água corrente e, posteriormente, foram submetidos aos mesmos procedimentos adotados para os demais tempos. Os resíduos remanescentes nos sacos foram analisados quanto aos teores MS, PB e FDN, em porcentagem, obtidos pela diferença de peso de cada componente antes e após a incubação ruminal.

Os teores de MS, PB e FDN da silagem de milho e dos conteúdos residuais de cada tempo de incubação foram analisados no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Paraná utilizando-se um equipamento de espectrofotometria de refletância no infravermelho proximal (NIRS), marca Berstorp Analytical Company, modelo 4500. As análises foram realizadas com base na utilização de curvas espectrais dos materiais analisados, cujos espectros foram obtidos por meio de radiações das amostras no infravermelho proximal, entre comprimento de onda de 1.300 a 2.400 nm (AOAC, 1990).

A silagem de milho utilizada na alimentação dos animais apresentou 32,50% de MS; 93,90% de MO; 8,00% de PB e 46,30% de FDN, em base seca.

Os dados obtidos nos diferentes tempos de incubação (variável independente) para MS e PB foram ajustados para uma regressão não-linear pelo método de Gauss-Newton, contido no pacote ocupacional SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1988), conforme a equação proposta por Orskov & McDonald (1979): $Y = a + b(1 - e^{-ct})$, em que: Y = degradação acumulada do componente nutritivo analisado, após o tempo t; a = intercepto de curva de degradação quando t = 0, que corresponde à fração solúvel em água do componente nutritivo analisado; b = potencial da degradação da fração insolúvel em água do componente nutritivo analisado; a+b = degradação potencial do componente nutritivo analisado quando o tempo não é fator limitante; c = taxa de degradação por ação fermentativa de b; t = tempo de incubação.

Depois de calculados, os coeficientes a, b e c foram aplicados à equação proposta por Orskov & McDonald (1979): $P = a + bxc / c + k$, em que: P = degradação ruminal efetiva do componente nutritivo analisado; k = taxa de passagem do alimento.

Assumiu-se uma taxa de passagem da digesta para o duodeno de 5%/hora, conforme sugerido pelo AFRC (1993).

Para o estudo da cinética de degradação de FDN, utilizou-se o modelo assintótico exponencial decrescente de primeira ordem proposto por Mertens (1993):

$Y = b * \exp(-c * t) + I$, em que: Y é o resíduo no tempo t; b, a fração potencialmente degradável; c, a taxa de degradação; t equivale aos tempos de incubação; e I, a fração não-degradável.

Os dados obtidos de degradação da MS, PB e FDN foram submetidos à análise de variância (Anova), conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A_j + T_k + \epsilon_{ijk}$$

em que: Y_{ijk} = degradação potencial e efetiva dos componentes da silagem de milho no período i, no animal j, no tratamento k; μ = média geral; P_i = efeito do período i (i = 1, 2, 3, 4); A_j = efeito do animal j (j = 1, 2, 3, 4); T_k = efeito do tratamento k (k = T₀, T₁, T₂, T₃); e ϵ_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% utilizando-se o pacote computacional SAS (2001).

Resultados e Discussão

Os valores da fração solúvel (a) e potencialmente degradável (b), da taxa de degradação da fração potencialmente degradável (c), das degradabilidades potencial (DP) e efetiva (DE) da MS e PB da silagem de milho com diferentes aditivos alimentares estão na Tabela 1. A fração a da MS foi de 21,97%, próximo ao valor observado por Rossi Jr. et al. (1997), que registraram 20,02%.

A fração b da MS do tratamento controle (SCL) apresentou valor de 54,64%, similar aos observados por Martins et al. (1999) e Rossi Jr. et al. (1997), de 54,80 e 56,06%, respectivamente. Os aditivos microbianos, nas concentrações utilizadas, nos tratamentos SBL e SEC não proporcionaram diferença (P>0,05) na fração b da MS quando comparados ao tratamento SCL. No entanto, a fração b da MS do tratamento SMS diferiu (P<0,05) da obtida nos demais tratamentos, sugerindo que a monensina sódica interferiu negativamente na atividade microbiana ruminal, conforme descrito por Slyter (1976) e Forsberg (1995), reduzindo a DP da MS.

A DP da MS observada no tratamento SEC não diferiu (P>0,05) da obtida no tratamento SCL (Tabela 1) e foi inferior aos valores observados por Beauchemin et al. (2002), que avaliaram a DP da MS da silagem de milho, *in vitro*, adicionada de produtos contendo enzimas fibrolíticas. Esses autores verificaram incrementos de 5,6 a 10,9% na DP em relação ao tratamento controle. Não foram detectadas

Tabela 1 - Valores das frações solúvel (a) e insolúvel potencialmente degradável (b), taxas de degradação da fração b (c) e degradabilidades potencial (DP) e efetiva (DE) da silagem de milho incubada em ambiente ruminal sem aditivos (SCL) ou inoculado com bactérias ruminais liofilizadas (SBL), enzimas celulolíticas (SEC) e monensina sódica (SMS)

Table 1 - Soluble (a) and insoluble (b) potentially degradable fractions, degradation rate (c) of fraction b, potential degradability (PD), and effective degradability (ED) of corn silage incubated in rumen with no additive (control) or inoculated with lyophilized ruminal and intestinal bacteria (LB), cellulolytic enzymes (CE), or sodium monensin (SM)

| Tratamento Treatment | MS DM | | | | |
|-------------------------|----------|---------|---------|--------|--------|
| | a (%) | b (%) | c (%/h) | DP (%) | DE (%) |
| SCL (control) | 21,97 | 54,64ab | 3,62a | 76,06a | 44,49a |
| SBL (LB) | 21,97 | 55,92a | 2,91a | 76,87a | 42,44a |
| SEC (CE) | 21,97 | 56,31a | 3,08a | 77,57a | 43,40a |
| SMS (SM) | 21,97 | 51,01b | 3,41a | 72,33b | 42,34a |
| CV (%) | - | 2,84 | 26,09 | 1,56 | 5,80 |
| | PB CP | | | | |
| | a (%) | b (%) | c (%/h) | DP (%) | DE (%) |
| SCL (control) | 49,63 | 32,95a | 2,86a | 82,00a | 61,56a |
| SBL (LB) | 49,63 | 31,85a | 2,90a | 80,47a | 61,24a |
| SEC (CE) | 49,63 | 32,91a | 3,10a | 81,89a | 61,90a |
| SMS (SM) | 49,63 | 29,12a | 3,63a | 77,99a | 61,62a |
| CV (%) | - | 9,92 | 24,57 | 3,59 | 1,62 |

Médias seguidas de letras diferentes para a mesma fração e componente nutritivo diferem ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.
Means followed by different letters in the same row differ by Tukey test ($P < 0,05$).

diferenças significativas ($P > 0,05$) para degradação efetiva da MS entre os tratamentos experimentais. Provavelmente, a ação da monensina sódica ou sua concentração não foram suficientes para proporcionar diferença na taxa de degradação (c), visto que a taxa de passagem foi constante entre os tratamentos.

As taxas de degradação (c) da MS e PB não diferiram entre os tratamentos, indicando que os aditivos avaliados não interferiram na velocidade de degradação da silagem de milho (Tabela 1). As taxas de degradação (c) da MS e PB do tratamento controle foram semelhantes às observadas por Rossi Jr. et al. (1997), que registraram valores de 2,96 e 3,32%/h, respectivamente, para MS e PB.

Os valores da fração potencialmente degradável (b), da taxa de degradação da fração potencialmente degradável (c) e da fração não-degradável ou resíduo indigerido (I) da FDN da silagem de milho com diferentes aditivos alimentares podem ser observados na Tabela 2. Não foram registradas diferenças ($P > 0,05$) para a fração (b), a taxa de degradação (c), a fração I e a degradação efetiva (DE) de FDN dos tratamentos experimentais. Os valores de b, c e I obtidos para FDN no tratamento controle, sem aditivo (SCL), foram de 57,83%; 2,0%/h; e 36,16%, respectivamente, semelhantes aos observados por Malafaia et al. (1998) para FDN da silagem de milho, de 58,4%; 2,3%/h; e 43,1%, respectivamente.

As taxas de degradação da fração (b) (c%/h) para FDN da silagem de milho dos diferentes tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, apresentando valores de 1,5

Tabela 2 - Valores da fração insolúvel potencialmente degradável (b), taxa de degradação da fração potencialmente degradável (c (%/h)) e da fração não-degradável ou resíduo indigerido (I) e degradação efetiva (DE) de FDN da silagem de milho incubada em ambiente ruminal sem aditivos (SCL) ou inoculado com bactérias ruminais liofilizadas (SBL), enzimas celulolíticas (SEC) e monensina (SMS)

Table 2 - Potentially degradable insoluble fraction (b), degradation rates of the potentially degradable fraction (c (%/h)), undegradable fraction or indigestible residue (I), and effective degradation (ED) of neutral detergent fiber (NDF) of corn silage incubated in rumen with no additive (control) or inoculated with lyophilized ruminal and intestinal bacteria (LB), cellulolytic enzymes (CE), or sodium monensin (SM)

| Tratamento Treatment | b (%) | c (%/h) | I (%) | DE (%) |
|-------------------------|--------|---------|---------|---------|
| | | | | |
| SCL (control) | 57,83a | 2,0a | 36,16ab | 53,60ab |
| SBL (LB) | 66,89a | 1,5a | 29,46b | 58,14ab |
| SEC (CE) | 64,34a | 2,0a | 33,17ab | 59,61a |
| SMS (SM) | 50,22a | 2,1a | 45,57a | 47,54b |
| CV (%) | 11,65 | 21,62 | 15,42 | 8,35 |

Médias seguidas de letras diferentes para a mesma fração e componente nutritivo diferem ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.
Means followed by different letters in the same row differ ($P < 0,05$) by Tukey test.

a 2,1%/h (Tabela 2). Estes resultados indicaram que os aditivos avaliados não interferiram na velocidade de degradação da FDN da silagem de milho. Segundo Wilson et al. (1989), a taxa de fermentação da fração potencialmente degradável influencia o consumo de MS, pois, se os alimentos forem degradados lentamente no rúmen, ocorre aumento do

efeito de repleção ruminal. Da mesma forma, a fração I influencia o consumo de MS, em decorrência do espaço ocupado no rúmen. A fração I para FDN foi crescente nos tratamentos SBL, SEC, SCL e SMS. Observou-se que a fração I da FDN no tratamento SBL (29,46%) diferiu ($P < 0,05$) em relação à do tratamento SMS (45,57%). No tratamento SBL, observou-se tendência de o desaparecimento da FDN ser mais lento que nos demais tratamentos até 48 horas de incubação, semelhante ao tratamento SMS. Após este tempo, os desaparecimentos de FDN foram semelhantes para todos os tratamentos, com exceção do tratamento SMS.

A importância da adesão das bactérias celulolíticas à parede celular para que ocorra a degradação da FDN tem sido descrita em diversos trabalhos (Kudo et al., 1987; Morris & Cole, 1987; Cheng et al., 1991). Esta adesão pode estar sujeita ao processo de adaptação (McCallister et al., 1994). Roger et al. (1990) demonstraram a perda de capacidade de adesão das *Fibrobacter succinogenes* à celulose em cultivos sucessivos em meio de celobiose como único substrato.

O tratamento SMS permaneceu com menores níveis de desaparecimento da FDN após 48 horas de incubação intraruminal, o que pode estar relacionado à interferência da monensina na atividade degradativa de bactérias proteolíticas (Slyter, 1976) ou à ação do aditivo reduzindo a concentração de amoníaco (Newbold et al., 1990) e, conseqüentemente, inibindo a atividade das bactérias fibrolíticas. Estas bactérias requerem amoníaco, ácidos graxos ramificados, vitaminas e minerais para seu crescimento e sua ótima atividade fibrolítica (Scott & Dehority, 1965).

Conclusões

Os diferentes aditivos utilizados para adaptação do ambiente ruminal não influenciaram a degradação efetiva da MS e da PB da silagem de milho.

A degradação efetiva da FDN da silagem de milho incubada em ambiente ruminal inoculado com monensina sódica foi menor que em ambiente ruminal inoculado ou não com bactérias ruminais liofilizadas ou enzimas celulolíticas.

Literatura Citada

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB International, 1993. 159p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Arlington: Kenneth Helrich, 1990. 1298p.
- BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P. et al. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.81, p.E37-E47, 2002.
- CHENG, K.J.; FORSBERG, C.W.; MINATO, H. et al. Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Eds.) **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. San Diego: Academy Press, 1991. p.595-624.
- DOREAU, M.; JOUANY, J.P. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.12, p.3214-3221, 1998.
- FORSBERG, C.W. **Tackling the problem of improving forage utilization without chemicals in ruminants**. Ontário: University of Guelph, 1995 (Dairy Research Report Publication, 395).
- HARRISON, J.H.; JOHNSON, L.; RILEY, R. et al. Effect of harvest maturity of whole plant corn silage on milk production and component yield, and passage of corn grain and starch into feces. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.149, 1996 (suppl. 1).
- HUHTANEN, P.; KHALILI, H. The effect of sucrose supplements on particle-associated carboxymethyl cellulase (EC 3.2.1.4) and xylanase (EC 3.2.1.8) activities in cattle given grass-silage based diet. **British Journal of Nutrition**, v.67, p.245-255, 1991.
- KUDO, H.; CHENG, K.J.; COSTERTON, J.W. Electron microscopic study of the methylcellulose-mediated detachment of cellulolytic rumen bacteria from cellulose fibers. **Canadian Journal of Microbiology**, v.33, p.267-272, 1987.
- LENG, R.A. Quantitative ruminant nutrition - a green science. **Australian Agricultural Research**, v.44, p.363-380, 1993.
- LEWIS, G.E.; HUNT, C.W.; SANCHEZ, W.K. et al. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, n.12, p.3020-3028, 1996.
- MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M. et al. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.790-796, 1998.
- MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.6, p.1736-1744, 1992.
- MARTINS, A.S.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta das silagens de milho e sorgo e de alguns alimentos concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.1109-1117, 1999.
- MCALLISTER, T.A.; BAE, H.D.; JONES, G.A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.72, p.3004-3012, 1994.
- MERTENS, D.R. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: American Society of Agronomy, 1993. p.535-570.
- MIRANDA, L.R.; QUEIROZ, A.C.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Desempenho e desenvolvimento ponderal de novilhas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana de açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.3, p.605-613, 1999.
- MORRIS, E.J.; COLE, O.J. Relationship between cellulolytic activity and adhesion to cellulose in *Ruminococcus albus*. **Journal of Genetic Microbiology**, v.13, p.1023-1032, 1987.
- MPOFU, I.D.T.; NDLOVU, L.R. The potential of yeast and natural fungi for enhancing fiber digestibility of forages and roughage. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.39-47, 1994.
- NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; MCKAIN, N. Effect of the ionophore tetronasin, on nitrogen metabolism of rumen microorganism *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2190-2196, 1990.
- NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B. et al. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. **Journal of Animal Science**, v.73, n.6, p.1811-1818, 1995.

- NUSSIO, L.G.; MANZANO, R.P. Silagem de milho. In: INTERLEITE – SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. **Anais...** Caxambu: 1999. p.44-60.
- ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal Agricultural Science**, v.92, n.1, p.499-503, 1979.
- ROGER, V.; FONTY, G.; KOMISARCZUK-BONY, S. et al. Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the ruminant bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinogenes*. **Applied Environmental Microbiology**, v.56, p.3081-3087, 1990.
- ROSSI JR., P.; SILVA, A.G.; WANDERLEI, R.C. et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca e da fração protéica da silagem de milho, do farelo de soja e do sorgo grão, em bovinos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.3, p.599-607, 1997.
- SCOTT, H.W.; DEHORITY, B.A. Vitamin requirement of several cellulolytic rumen bacteria. **Journal of Bacteriology**, v.89, p.1169-1175, 1965.
- SLYTER, L.L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, v.43, p.910-929, 1976.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS user's guide: statistics**. Cary: 2001. 717p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Sistema de análises estatísticas e genética - SAEG**. Viçosa, MG: Fundação Arthur Bernardes, 1988. (Apostila)
- YOON, I.K.; STERN, M.D. Influence of direct-fed microbials on ruminant microbial fermentation and performance of ruminants. A review. **Journal of Animal Science**, v.8, p.533-555, 1995.
- WILSON, J.R.; MCLEOD, M.N.; MINSON, D.J. Particle size reduction of leaves of a tropical and a temperate grass by cattle. **Grass Forage Science**, v.44, p.55-63, 1989.

Recebido: 07/06/05

Aprovado: 11/07/06