



Digestibilidade do amido e comportamento ingestivo de novilhos confinados sob efeito de doses de complexo enzimático em dietas de alta densidade energética

[Digestibility of starch and ingestive behavior of feedlot steers by effect of enzymatic complex doses in high-energy diets]

G.L.D. Vigne, M. Neumann, L.C. Santos, E.S. Stadler Júnior,
G.B. Pontarolo, K. Petkowicz, F.B. Cristo

Universidade Estadual do Centro-Oeste - Guarapuava, PR

G.L.D. Vigne
<https://orcid.org/0000-0001-5183-2913>
M. Neumann
<https://orcid.org/0000-0003-4738-4489>
L.C. Santos
<https://orcid.org/0000-0003-3433-3797>
E.S. Stadler Júnior
<https://orcid.org/0000-0002-6044-2172>
G.B. Pontarolo
<https://orcid.org/0000-0003-1889-6354>
K. Petkowicz
<https://orcid.org/0000-0002-7059-8293>
F.B. Cristo
<https://orcid.org/0000-0001-9277-57>

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a conversão alimentar, a digestibilidade do amido, o comportamento ingestivo e o escore de sobras da dieta e de fezes de novilhos confinados, suplementados com doses do complexo enzimático (0; 2,5; 5,0 e 7,5g animal⁻¹ dia⁻¹) e alimentados com dieta constituída por 85% de grão de milho e 15% de núcleo proteico, vitamínico e mineral, na base seca, isenta de forragem. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso contendo quatro tratamentos e quatro repetições. Trinta e dois novilhos inteiros, ½ sangue Angus Nelore, com idade média de 12 meses e peso vivo médio inicial de 422kg, foram confinados por um período de 77 dias. Cada grama de inclusão de complexo enzimático melhorou a conversão alimentar em 0,1652%, reduziu a matéria seca das fezes em 0,4648% e o tempo de ingestão de água em 0,0068 horas dia⁻¹. A máxima digestibilidade do amido foi alcançada na dose de 5,08g animal⁻¹ dia⁻¹. A inclusão progressiva do complexo enzimático à dieta de alta densidade energética promoveu melhoria na conversão alimentar, redução na matéria seca das fezes e diminuição do tempo de ingestão de água. A dose de 5g animal⁻¹ dia⁻¹ do complexo enzimático aumentou a digestibilidade do amido.

Palavras-chave: conversão alimentar, enzimas exógenas, escore de fezes, escore de sobra de dieta, matéria seca das fezes

ABSTRACT

The objective was to evaluate the feed conversion, starch digestibility, ingestive behavior, diet leftover score and feces score of steers supplemented with doses of enzyme complex (0; 2.5; 5.0 and 7.5g animal⁻¹ day⁻¹) fed with roughage-free diet composed of a mixture of 85% whole corn grain and 15% protein-mineral-vitamin mix, on a dry matter basis. A completely randomized block design was adopted, consisting of four treatments and four replicates. Thirty-two ½ Angus ½ Nelore crossbred steers at an average age of 12 months, with an average initial weight of 422kg, were kept in a feedlot for 77 days. Each gram of enzyme complex inclusion improved feed conversion in 0.1652%, decreased feces dry matter in 0.4648% and time of water intake in 0.0068 hours day⁻¹. The maximum starch digestibility was reached in the dose of 5.08g animal⁻¹ day⁻¹. The gradual inclusion of enzyme complex promoted improvement in feed conversion, reduction in the dry matter of feces and reduction in the time of water intake. The enzyme complex dose of 5.0g animal⁻¹ day⁻¹ increased the starch digestibility.

Keyword: feed conversion, exogenous enzymes, feces score, diet leftover score, feces dry matter

INTRODUÇÃO

O uso de dietas de alta densidade energética (DADE) em confinamento tem se tornado uma prática comum e crucial na terminação de

bovinos de corte (Cho *et al.*, 2014). Nesse contexto, o milho é o principal componente fornecedor de amido e, conseqüentemente, o responsável pela determinação da densidade energética final da dieta. Entretanto, as características estruturais do amido e as

Recebido em 19 de janeiro de 2018

Aceito em 9 de novembro de 2018

E-mail: gabivigne@hotmail.com

interações com outros componentes não amiláceos alteram o potencial de digestão de amido e reduzem a absorção dos nutrientes (Giuberti *et al.*, 2014).

Dessa forma, a implementação do uso estratégico de aditivos em DADE tem sido bem vista e aplicada. Dentre os aditivos mais utilizados, destacam-se as enzimas, as quais objetivam o aumento na digestibilidade dos componentes da dieta e menor excreção de nutrientes pelos bovinos (Beauchemin *et al.*, 2003). Apesar de constatada a melhora da digestibilidade da matéria seca, o uso de enzimas exógenas para ruminantes apresenta respostas variadas na digestão dos alimentos e no desempenho animal (Yang *et al.*, 2011). Além disso, encontram-se poucos estudos associando doses de complexos (CE) enzimáticos a DADE isentas de forragem com o intuito de avaliar desempenho animal, digestibilidade da dieta e comportamento ingestivo. Assim, torna-se importante determinar as condições mais favoráveis para a aplicação dessa tecnologia e as doses adequadas dos complexos enzimáticos nesse tipo de dieta, amplamente utilizada na fase de terminação de animais.

Logo, o objetivo deste trabalho foi avaliar doses de complexo enzimático adicionado à dieta de novilhos confinados sobre a conversão alimentar (CA), a digestibilidade aparente do amido (DA), o comportamento ingestivo (CI), o escore de sobras da dieta (ESD) e o escore de fezes (EF) dos animais em dieta de alta densidade energética (DADE).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em Guarapuava, Paraná, Brasil (25°23'02"S, 51°29'43"W), altitude de 1.026m, entre julho e outubro de 2016. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação, sob o ofício n° 03/2016 de 19 de fevereiro de 2016.

Foram utilizados 32 novilhos ½ Angus Nelore, machos inteiros, provenientes do mesmo rebanho, com peso médio inicial de 422kg±6,2kg e idade média de 12±2 meses. Os animais foram alojados em sistema de confinamento em 16 baias, semicobertas, com área de 15m², com

comedouro de concreto e bebedouro regulado por boia automática. A distribuição dos animais nas unidades experimentais foi realizada com base no peso vivo (PV), na área de olho de lombo (AOL) e na espessura de gordura da picanha (EGP), mensuradas por ultrassom (Aloka® SSD-500 Vet) constituído de ecocâmara acoplada a uma probe de 17cm e 3,5MHz.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, composto por quatro doses de complexo enzimático (DCE) (0; 2,5; 5,0 e 7,5g animal⁻¹ dia⁻¹), com quatro repetições, e cada baia com dois animais constituiu a unidade experimental. O complexo enzimático (CE) (Potenzya®, enzima, JBS, Estados Unidos), obtido da fermentação dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma reesei*, foi submetido à análise prévia de atividade enzimática pelo fornecedor do produto, por ensaio com ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) (adaptado de Miller, 1959), com atividades de 3.117, 2.870, 2.210, 372, 11 e 21U g⁻¹ de xilanase, celulase, β-glucanase, mananase, α-galactocidase e amilase, respectivamente. O experimento teve duração de 77 dias, sendo os primeiros 14 dias destinados à adaptação dos animais às dietas e às instalações. Os demais 63 dias foram, então, divididos em três períodos experimentais de avaliação, compostos de 21 dias cada.

Anteriormente ao experimento, a dieta total dos animais foi constituída na relação constante 50:50 de volumoso e concentrado (silagem de milho e núcleo proteico, vitamínico e mineral (NPVM), com base na matéria seca (MS). Assim, a adaptação dos animais à dieta experimental ocorreu de forma que, nos primeiros cinco dias, foi fornecido 1,2kg de MS 100kg de PV⁻¹ aos animais de mistura concentrada (relação constante de mistura de 85:15 entre milho inteiro e NPVM) e silagem de milho à vontade; do sexto ao 10° dia, foi fornecido 1,6kg de MS 100kg de PV⁻¹ da mistura concentrada e silagem de milho à vontade; e no 11° dia foi fornecido 1,8kg de MS para cada 100kg PV⁻¹ e iniciada a redução do fornecimento de volumoso de 25% ao dia em relação ao consumo do 10° até o 15° dia, quando foi interrompido o fornecimento de volumoso, disponibilizando-se somente a mistura de concentrado no cocho. A dieta total foi formulada a fim de garantir ganho médio diário

Digestibilidade do amido...

de 1,5kg animal⁻¹ dia⁻¹, de acordo com o NRC (Nutrient..., 2000).

O NPVM foi formulado à base de farelo de soja, milho, farelo de trigo, casca de soja, radícula de malte, calcário calcítico, fosfato bicálcico, ureia pecuária, sal comum, premix vitamínico mineral, sendo apresentado na forma peletizada. O manejo alimentar foi realizado duas vezes ao dia (às seis e às 16 horas). O consumo foi registrado diariamente, por meio da diferença de peso entre a quantidade oferecida e as sobras do dia anterior. O ajuste no fornecimento foi realizado diariamente, visando à oferta *ad libitum*, considerando-se sobras de 10%, com base na MS da dieta.

Durante o período de confinamento (PC), foram coletadas amostras dos componentes da dieta

para determinação da composição química (Tab. 1). As amostras foram secas em estufa com ventilação, a 55°C até peso constante, e sequencialmente moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1mm de diâmetro. As análises de MS, proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) foram realizadas de acordo com AOAC (Official..., 1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos conforme método de Van Soest *et al.* (1991), com α -amilase termoestável, e os de fibra em detergente ácido (FDA), segundo Goering e Van Soest (1970). Para a determinação dos teores de fósforo e cálcio, foram realizadas análises de acordo com a metodologia descrita por Tedesco *et al.* (1995). O coeficiente de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado segundo Weiss *et al.* (1992).

Tabela 1. Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, expressos em g kg⁻¹ de matéria seca total

Parâmetro	Milho	Concentrado	Dieta total ¹
Matéria seca, g kg ⁻¹	834,6	902,2	844,7
Matéria mineral, g kg ⁻¹ MS	7,7	163,1	31,0
Proteína bruta, g kg ⁻¹ MS	77,2	422,3	129,0
Fibra em detergente neutro, g kg ⁻¹ MS	240,8	246,1	241,6
Fibra em detergente ácido, g kg ⁻¹ MS	57,3	122,8	67,1
Nutrientes digestíveis totais, g kg ⁻¹ MS	838,3	697,0	817,1
Amido, g kg ⁻¹ MS	560,1	257,4	514,7
Cálcio, g kg ⁻¹ MS	0,3	27,7	4,4
Fósforo, g kg ⁻¹ MS	2,5	11,1	3,8

¹ Composição da dieta total: 85% de grãos de milho e 15% de núcleo proteico, vitamínico e mineral.

Os animais foram pesados no início e no final do experimento, bem como ao final de cada período de avaliação, após jejum sólido de 10 horas. A ingestão de matéria seca diária, expressa em kg dia⁻¹, foi mensurada pela diferença entre a quantidade diária de alimento fornecido e a quantidade das sobras do alimento do dia anterior. Para determinação da conversão alimentar (CA), realizou-se a razão entre a ingestão média diária de matéria seca e o ganho de peso médio diário obtido no período de avaliação. Em cada PC, ocorreu a coleta total de fezes de cada unidade experimental, durante 48 horas consecutivas, o que permitiu determinar a produção total de fezes na base úmida (FTU). As fezes foram pesadas e amostradas ao final de cada turno de seis horas. Posteriormente, foram secas em estufa com ventilação, a 55°C, até peso constante e, posteriormente, moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1mm de diâmetro.

Tal procedimento permitiu determinação do teor de matéria seca das fezes (MSF) e sequencialmente estimação da produção total de fezes na base seca (FTS), expressa em kg dia⁻¹ de MS. Para obtenção da digestibilidade aparente do amido (DA), realizou-se análise de teor de amido em amostras homogêneas da dieta e das fezes, conforme metodologia descrita por Hendrix (1993). A DA, expressa em g kg⁻¹ de MS, foi calculada por meio da fórmula: DA {1 - [(amido ingerido - amido excretado) ÷ amido ingerido]} x 100.

A análise do comportamento ingestivo (CI) dos animais foi realizada por 48 horas consecutivas, ao final de cada período experimental. As observações foram realizadas por quatro observadores por turno, em sistema de rodízio a cada seis horas. As leituras foram tomadas em intervalos regulares de três minutos. O CI foi

representado pelas atividades de ócio, de ruminação, de ingestão de água e de ingestão de alimento, expressas em horas dia⁻¹. Na observação noturna, o ambiente foi mantido com iluminação artificial.

Durante PC, diariamente se realizou a graduação das fezes de cada baía mediante observação visual, por meio de escores, que variaram de 1 a 6, sendo: 1= fezes líquidas, sem consistência; 2=

fezes líquidas, pouco consistentes; 3= fezes líquidas, pouco consistentes, com pilhas pequenas de até 2,5cm; 4= fezes intermediárias com anel concêntrico e pilha de 3 a 4cm; 5= fezes pouco líquidas com anel concêntrico e pilha de mais de 5cm; 6= fezes endurecidas ou ressecadas, com base na metodologia adaptada de Looper *et al.* (2001) e Ferreira *et al.* (2013), de acordo com a Fig. 1A.

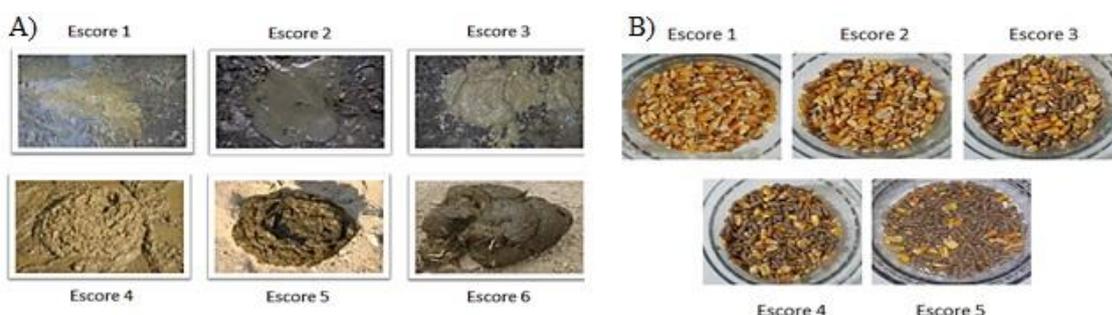


Figura 1. A) Ilustração de escores fecais. B) Ilustração do escore das sobras da dieta.

Além da graduação do escore das fezes (EF), também foi realizada diariamente a avaliação visual da sobra de dieta em relação a sua proporção de milho inteiro e de núcleo proteico, vitamínico e mineral, com base na MS. As sobras foram graduadas por meio de escores de qualidade, que variaram de 1 a 5, sendo 1= 100% de milho grão inteiro e 0% de NPVM; 2= 85% de milho grão inteiro e 15% de NPVM; 3= 65% de milho grão inteiro e 35% de NPVM; 4= 45% de milho grão inteiro e 55% de NPVM; e 5= 25% de milho grão inteiro e 75% de NPVM, com base na MS, representadas na Fig. 1B.

Os dados obtidos de cada variável foram submetidos a testes de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e de homogeneidade pelo teste de Bartlett (PROC GLM). Posteriormente, os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância. Os dados correspondentes às análises de período foram submetidos à comparação de médias pelo teste de Tukey, a 0,05 de significância, por meio do PROC GLM. Enquanto isso, os dados correspondentes a doses de enzima foram analisados pelo teste de regressão, por meio do

PROC REG, por intermédio do programa estatístico SAS (versão 6.4). A análise de cada variável seguiu o modelo estatístico: $Y_{ijk} = \mu + D_i + P_j + B_k + (D*P)_{ij} + E_{ijk}$; em que: Y_{ijk} = variáveis dependentes; μ = média geral de todas as observações; D_i = efeito da dose de enzima de ordem "i", sendo 1= dieta controle, 2= 2,5g animal dia⁻¹, 3= 5,0g animal dia⁻¹ e 4= 7,5g animal dia⁻¹; P_j = efeito do período de confinamento de ordem "j", sendo 1 = primeiro período, 2= segundo período e 3= terceiro período; B_k = efeito do bloco de ordem "k", sendo 1= primeiro, 2= segundo, 3= terceiro e 4= quarto; $(D*P)_{ij}$ = efeito da interação entre dose de enzima e período de confinamento de ordem "ij" e E_{ijk} = efeito aleatório residual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o parâmetro CA, não houve interação significativa entre dose de complexo enzimático e PC ($P > 0,05$). No que diz respeito aos PC, estes também não influenciaram de forma significativa ($P > 0,05$) a CA dos novilhos alimentados com DADE (Tab. 2).

Digestibilidade do amido...

Tabela 2. Conversão alimentar, produção média de fezes em kg dia⁻¹, base seca, teor de matéria seca fecal e digestibilidade do amido de novilhos suplementados com doses de complexo enzimático incluídas na dieta, conforme período de confinamento

Dose de complexo enzimático	Período de confinamento			Média
	1-21 dias	22-42 dias	43-63 dias	
	Conversão alimentar (kg MS ingerida ganho de peso diário ⁻¹)			
Controle	5,79	6,84	7,57	6,73
2,5g	6,13	5,15	4,95	5,41
5,0g	6,40	5,65	5,45	5,83
7,5g	5,13	5,40	5,12	5,22
Média	5,86 a	5,76 a	5,77 a	
Equação regressão	CA: 6,4187 - 0,1652D (R ² :0,221; CV: 21,2%; P=0,0124)			
	Produção de fezes, kg dia ⁻¹ de MS			
Controle	1,21	1,43	1,35	1,33
2,5g	1,03	0,96	1,09	1,03
5,0g	1,12	1,27	1,09	1,16
7,5g	1,09	1,06	1,14	1,10
Média	1,11 a	1,18 a	1,17 a	
Equação regressão	PFMS: 1,2990 - 0,0944D + 0,0095D ² (R ² =0,189; CV=25,1%; P=0,0234)			
	Matéria seca fecal, %			
Controle	32,81	32,00	32,91	32,57
2,5g	26,43	29,12	29,92	28,49
5,0g	29,24	29,68	29,38	29,43
7,5g	27,22	28,45	29,49	28,39
Média	28,92 a	29,81 a	30,43 a	
Equação regressão	MSF: 31,4649 - 0,4648D (R ² =0,194; CV=9,1%; P=0,0017)			
	Digestibilidade aparente do amido, %			
Controle	92,89	91,20	90,18	92,66
2,5g	94,44	95,19	94,92	94,63
5,0g	93,43	94,21	93,67	93,44
7,5g	94,00	94,60	93,99	94,15
Média	93,69 a	93,80 a	93,19 a	
Equação regressão	DA: 91,5654 + 1,2948D - 0,1274D ² (R ² =0,275; CV=2,2%; P=0,0007)			

Médias seguidas por letras minúsculas, diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

* D: dose de enzima variando de 0 a 7,5g animal dia⁻¹.

Na média geral, independentemente dos PC, a CA foi influenciada (P<0,05) pelas DCE (Tab. 2), apresentando comportamento linear. Verificou-se que, a cada grama de inclusão do CE à dieta, houve uma melhora na CA na ordem de 0,1652 (Tab. 2). Em experimento realizado por DiLorenzo *et al.* (2011), com o intuito de avaliar a adição de amilase em dietas de alta densidade energética (DADE) para bovinos confinados, foi verificado que a CA não foi afetada pela inclusão da enzima na dose de 600KNU kg⁻¹ de MS, sendo um KNU correspondente à quantidade de enzima necessária para liberar 6µmol de p-nitrofenol por minuto a pH 7,0 e temperatura de 37°C. De acordo com os autores, essa dose de enzima amilase isolada não foi suficiente para modificar

a digestibilidade dos nutrientes e o desempenho dos animais.

Mota *et al.* (2011), ao conduzirem experimento para avaliar a redução do nível de grãos em dietas de terminação de cordeiros suplementados com enzima glucoamilase isolada, também não verificaram diferença estatística para a CA entre os tratamentos com a inclusão de 0,12g de enzima kg⁻¹ de MS, o que pode ser resultado da pequena dose de enzima utilizada no experimento ou do uso apenas da glucoamilase como atividade enzimática, não sendo, desse modo, fornecidas enzimas capazes de atuarem nos polissacarídeos não amiláceos. Neumann *et al.* (2018), ao realizarem experimento com CE com predominância de xilanase como atividade enzimática, na dose de 5g animal⁻¹ dia⁻¹,

verificaram que, na fase de adaptação à DADE, a CA melhorou em 23,71%.

No presente trabalho, o CE estudado era composto por atividades enzimáticas de várias enzimas com diferentes sítios de atuação, como: xilanase, celulase, β -glucanase, mananase, α -galactocidase e amilase, enquanto nos trabalhos de DiLorenzo *et al.* (2011) e Mota *et al.* (2011) as enzimas utilizadas eram amilases ou glucoamilases isoladamente. No presente experimento, acredita-se que, por se tratar de um complexo multienzimático contendo também enzimas fibrolíticas e em virtude de comparação entre doses no mesmo experimento, pôde-se observar melhora da CA com o aumento na DCE. A utilização de enzimas fibrolíticas provavelmente proporcionou, neste trabalho, a melhor digestibilidade da fibra do grão de milho, o que permitiu maior ataque enzimático aos grânulos de amido pelas enzimas amilases, verificado pelo aumento da DA (Tab. 2) Por esse motivo, acredita-se que a CA tenha sido influenciada pelas DCE. Além disso, existem evidências de que, em dietas contendo grande quantidade de grãos que apresentam alta digestibilidade, a suplementação enzimática pode não gerar efeitos de *performance* dos animais, já que a energia, nesse caso, não se torna um fator limitante (Beauchemin *et al.*, 2003).

No que diz respeito à produção de fezes e a DA, nenhum desses parâmetros exibiu efeito de interação ($P > 0,05$) entre DCE e PC. Além disso, nenhum desses parâmetros teve influência dos PC. A PFS foi influenciada pelas doses de CE ($P < 0,05$), apresentando comportamento quadrático, havendo, na dose de 4,96g animal⁻¹ dia⁻¹, a menor PFS (Tab. 2). O teor de MSF também apresentou diferença estatística significativa ($P < 0,05$) para as DCE, em que, para cada grama de inclusão de enzima, o teor MSF reduziu na ordem de 0,4648% (Tab. 2). A DA também foi influenciada pelas DCE incluídas na dieta ($P < 0,05$) (Tab. 2). Tal parâmetro apresentou comportamento quadrático em relação às doses do CE, e o ponto de maior DA foi alcançado na dose de 5,08g animal⁻¹ dia⁻¹. Provavelmente, por isso, observou-se redução linear da MSF com a inclusão progressiva de DCE e a menor PFS na dose de 4,96g animal⁻¹ dia⁻¹ de CE.

De acordo com Silva *et al.* (2012) e Carvalho *et al.* (2015), dietas com alta proporção de FDN e FDA tendem a diminuir a taxa de passagem e, com isso, produzir fezes com maior consistência. Entretanto, fezes de consistência mais líquida e rápida taxa de passagem são observadas em dietas com maior teor de carboidratos não estruturais (CNE), como dietas à base de grão de milho e NPVM.

Com o aumento da DA na dose de 5,08g animal⁻¹ dia⁻¹, pressupõe-se que houve melhora na digestão dos polissacarídeos não estruturais presentes no grão de milho, o que permitiu maior acesso das enzimas aos grânulos de amido. O aumento do teor de CNE no intestino, além de ter causado aumento da taxa de passagem no trato gastrointestinal por atender as exigências energéticas de forma mais rápida, pode ter provocado um efeito de osmolaridade, o que acarreta a retenção de água no lúmen intestinal e justifica a redução da MSF com a inclusão progressiva do CE. Rojo *et al.* (2005) verificaram que a DA, tanto ruminal quanto do trato total, aumentou com a inclusão de doses de enzima também de forma quadrática, ao analisarem a DA de cordeiros com cânula ruminal e duodenal, suplementados solução enzimática amilolítica produzida por *Bacillus licheniformis*, nas doses 0; 1,45 ou 2,90g de enzima kg⁻¹ MS em DADE à base de grãos de sorgo contendo, em média, 67,88% de amido.

Estudos têm indicado que as enzimas isoladas levam a um mecanismo diferente de hidrólise dos grânulos de amido em comparação com os mecanismos empregados pelos microrganismos ruminais, pois geralmente penetram nos grânulos de amido dos grãos e, em seguida, nos grânulos já hidrolisados, na direção de dentro para fora do grão, principalmente devido à presença de amido lipídico e do complexo proteína e amido (Cone e Vlot, 1990; Cone, 1991). Entretanto, Rojo *et al.* (2005), ao suplementarem os animais com solução enzimática à base de glucoamilase proveniente de *Aspergillus niger*, nas mesmas doses e condições do experimento com doses de CE amilolítico produzida por *Bacillus licheniformis*, não observaram efeito sobre a DA no rúmen e no trato digestório total. A DA, analisada por Oliveira *et al.* (2015), também não foi influenciada pela suplementação com enzimas amilolíticas em DADE à base de milho quebrado, farinha de semente de algodão e

silagem de capim-mombaça fornecida a novilhos. Contudo, a concentração de amido e a porcentagem de amido residual nas fezes foram estimadas pela análise proposta por Bach-Knudsen e Glitso (1997), e no presente trabalho, realizou-se a análise pelo método sugerido por Hendrix (1993).

Brito (2010), entretanto, não verificou efeito significativo na DA para as doses de CE, sendo a DA média entre os tratamentos de 98,20%. Em seu estudo, o autor analisou a DA pelo método sugerido por Hendrix (1993), por meio das fezes de cordeiros suplementados com doses de CE contendo amilase, celulase, fitase, xilanase, betaglucanase, pectinase e protease (0; 0,3; 0,9 ou 2,7g kg⁻¹ de MS), os quais receberam dieta composta por milho grão seco, farelo de soja e feno de *coast cross* em sua maior proporção.

Tal fato indica que existem diferenças nos resultados encontrados com o uso de CE exógenos provenientes da fermentação de diferentes microrganismos. Além disso, a DA e sua consequente excreção pelas fezes são também influenciadas pelo tipo de grão da dieta e a forma como esses grãos são processados (Huntington, 1997; Oliveira *et al.*, 2015). Com relação aos parâmetros avaliados durante o CI, nenhum deles apresentou interação ($P>0,05$) entre DCE e PC. Apenas o TIAG apresentou diferença significativa ($P<0,05$) para os PC, enquanto o tempo de ingestão de alimentos (TIAL), o de ruminação (TR) e o de ócio (TO) não exibiram diferença estatística ($P>0,05$) entre os períodos avaliados (Tab. 3).

As DCE incluídas na dieta não geraram diferença estatística ($P>0,05$) sobre o TIAL. Entretanto, o TO, o TR e o TIAG apresentaram diferença estatística significativa ($P<0,05$) para as DCE (Tab. 3). O TR e o TO apresentaram comportamento quadrático em relação às DCE. O menor TR foi observado na DCE de 5,73g animal⁻¹ dia⁻¹, enquanto o maior TO foi verificado na dose 5,58g animal⁻¹ dia⁻¹ (Tab. 3). Em experimento realizado por Beauchemin *et al.* (2000), em que utilizaram um CE comercial à base de betaglucanase, xilanase e endocelulase, nas doses 1,22 ou 3,77L de produto t⁻¹ de MS adicionado à dieta composta de 45% de forragem, verificou-se que o TIAL por unidade de FDN e FDA decresceu com o uso das enzimas, fato atribuído ao efeito pré-ingestivo da

enzima no alimento, quando esta é adicionada à dieta previamente ao fornecimento no cocho, o que não ocorreu neste experimento, já que o CE foi adicionado à dieta no momento da oferta de alimento.

Krause *et al.* (1998), ao suplementarem novilhos com CE com atividade de celulase, xilanase e amilase, na dose de 1.500g t⁻¹ de concentrado, em DADE à base de grão de cevada, não observaram efeito da inclusão enzimática no TIAL, no TR e no TO. Entretanto, essas atividades despenderam, em média, respectivamente, 2,71 horas dia⁻¹, 4,90 horas dia⁻¹ e 7,6 horas dia⁻¹. Esses valores devem ter sido atingidos em razão de a dieta total, apesar de ser uma DADE, conter 5% de silagem ou palha de cevada.

No presente trabalho, em que a dieta correspondia a apenas milho em grão e NPVM peletizado, o TIAL, o TR e o TO despenderam, em média, respectivamente, 1,61 hora dia⁻¹, 0,91 hora dia⁻¹ e 21,4 horas dia⁻¹. De acordo com Allen *et al.* (2009) e Carvalho *et al.* (2014), o TIAL e o TR em DADE, em comparação a dietas com grande presença de forragem, são menores, em virtude do menor tamanho de partícula do alimento e, conseqüentemente, da maior quantidade de alimento ingerido por apreensão de alimento. Além disso, pelo fato de DADE possuírem maior teor de energia, elas levam à saciedade anteriormente por meio da regulação fisiológica do consumo, despendendo menor TIAL e, por isso, maior TO. Van Soest (1994) relatou que, para animais confinados, o TIAL é de aproximadamente uma hora para DADE, o que corrobora os resultados encontrados no presente trabalho.

Acredita-se que o aumento da DA (Tab. 2) tenha colaborado com o menor TR e o maior TO (Tab. 3), já que todos os parâmetros atingiram ponto máximo ao redor da dose de 5g animal⁻¹ dia⁻¹ de CE. De acordo com Carvalho *et al.* (2015), a redução do TR pode ser explicada pela menor taxa de FDN. Além disso, esse resultado também pode ser justificado pelo aumento da taxa de passagem e menor tempo de permanência do alimento no rúmen, fatores que são determinantes para maior frequência de acessos ao comedouro.

Tabela 3. Comportamento ingestivo, expresso em horas dia⁻¹, escore diário de sobra da dieta e escore de fezes de novilhos suplementados com doses de complexo enzimático incluídas na dieta de alta densidade energética, conforme período de confinamento

Dose de complexo enzimático	Período de confinamento			Média
	1-21 dias	22-42 dias	43-63 dias	
	Tempo de ingestão de alimento, horas dia ⁻¹			
Controle	1,52	1,59	1,31	1,47
2,5g	1,94	1,76	1,49	1,73
5,0g	1,73	1,64	1,36	1,58
7,5g	1,75	1,67	1,62	1,68
Média	1,73 a	1,66 a	1,45 a	
Equação regressão*	CAI: 1,61 hora dia ⁻¹ (R ² =0,016; CV=26,3%; P=0,3990)			
	Tempo de ingestão de água, horas dia ⁻¹			
Controle	0,24	0,10	0,08	0,14
2,5g	0,19	0,10	0,09	0,13
5,0g	0,08	0,10	0,11	0,10
7,5g	0,12	0,11	0,06	0,10
Média	0,16 a	0,10 b	0,08 b	
Equação regressão	CAg: 0,1422 - 0,0068D (R ² =0,188; CV=43,1%; P=0,0404)			
	Tempo de ruminação, horas dia ⁻¹			
Controle	0,61	0,43	0,31	0,45
2,5g	1,39	1,01	1,33	1,24
5,0g	0,47	0,74	1,15	0,79
7,5g	1,27	0,98	1,24	1,16
Média	0,94a	0,79 a	1,01 a	
Equação regressão	Ru: 0,5534 + 0,1940D - 0,0169D ² (R ² =0,161; CV=45,9%; P=0,0193)			
	Tempo de ócio, horas dia ⁻¹			
Controle	21,74	21,87	22,37	21,99
2,5g	20,56	21,14	21,10	20,93
5,0g	21,74	21,57	21,46	21,59
7,5g	20,89	21,29	21,09	21,09
Média	21,23 a	21,47 a	21,50 a	
Equação regressão	Oc: 21,8525 - 0,2503D + 0,0224D ² (R ² =0,147; CV=3,1%; P=0,0272)			
	Escore de sobra da dieta			
Controle	2,14	2,11	2,29	2,18
2,5g	2,21	2,41	2,39	2,34
5,0g	2,21	2,18	2,38	2,26
7,5g	2,13	2,18	2,20	2,17
Média	2,18 a	2,22 b	2,32 ab	
Equação regressão	ED: 2,1914 + 0,0702D - 0,0099D ² (R ² =0,181; CV=6,2%; P=0,0072)			
	Escore de fezes			
Controle	2,89	3,07	3,15	3,04
2,5g	2,93	2,98	3,15	3,02
5,0g	2,69	2,91	3,10	2,90
7,5g	3,00	2,91	3,10	3,00
Média	2,88 b	2,97 a	3,12 b	
Equação regressão	EF: 2,99 (R ² =0,013; CV=6,9%; P=0,4317)			

Médias seguidas por letras minúsculas, diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

* D: dose de enzima variando de 0 a 7,5g animal dia⁻¹.

Neste trabalho, o TIAL não foi influenciado pelas DCE. Porém, o tempo de alimentação não indica a quantidade de alimento ingerido por bocada por animal. Mas observa-se que o aumento progressivo da DCE melhorou a CA, demonstrando que, para cada quilo de ganho de PV, foi preciso ingerir menor quantidade de MS. Dessa forma, infere-se que, neste trabalho, na dose de 5g animal⁻¹ dia⁻¹ de CE, os animais tenderam a ingerir menor quantidade de MS, ruminaram menos horas dia⁻¹ e permaneceram em maior TO, causado pelo aumento da DA.

O aumento da DA pode estar associado ao possível maior ataque enzimático à fração de FDN dos grãos de milho, o que facilitou a digestão do amido, elevou sua concentração no trato gastrointestinal, aumentou a taxa de passagem e reduziu o tempo de permanência do alimento no rúmen. O TIAG apresentou comportamento linear decrescente (Tab. 03) para as DCE na ordem de 0,0068 hora dia⁻¹ para cada grama de CE adicionado à DADE. De acordo com Pereyra e Leiras (1991), Oliveira *et al.* (2015) e Neumann *et al.* (2015), o TIAG pode ser influenciado por diversos fatores, como: a produção animal, o PV, o genótipo, a temperatura ambiente, a temperatura da água, a qualidade da água, o consumo de MS, o consumo de sódio, a suplementação mineral, o tipo de bebedouro, a dieta, o sistema de produção animal, o metabolismo energético e o consumo de O₂.

Neumann *et al.* (2015) encontraram diferença estatística para TIAG ao avaliarem o CI de novilhos Holandeses alimentados com diferentes dietas em sistema de confinamento. Verificaram que o tratamento que recebeu dieta composta de 80% de grão de milho e 20% de núcleo proteico apresentou menor TIAG (0,15 hora dia⁻¹) quando comparado às demais dietas. Esses dados vão de encontro aos dados de TIAG observados no presente trabalho, que, em média, consistiu em 0,11 hora dia⁻¹.

Loures *et al.* (2005), com o objetivo de avaliarem o efeito do emurchecimento e o uso de enzimas fibrolíticas antecedendo o fornecimento aos animais com dietas compostas de 50% de silagem de capim-tanzânia e 50% de concentrado à base de grão de milho moído, verificaram que não houve diferença significativa entre os tratamentos para TIAG, cuja média foi de 0,28

hora dia⁻¹. Entretanto, a média do TIAG dos animais que receberam silagem sem emurchecimento foi de 0,33 hora dia⁻¹, enquanto dos animais que receberam silagem sem emurchecimento com enzimas fibrolíticas aplicadas 30 minutos antes do fornecimento aos animais foi de 0,18 hora dia⁻¹.

Ainda não se compreende completamente o motivo pelo qual o aumento da dose de suplementação com enzimas exógenas pode causar diminuição do TIAG. Entretanto, Hristov *et al.* (2000) observaram redução da viscosidade do conteúdo intestinal quando fornecidas altas doses de CE, além de um aumento de 30% na atividade da xilanase no intestino. A redução do tempo TIAG, no entanto, não indica a quantidade de água ingerida pelos animais, e, por isso, não se pode afirmar que houve redução da ingestão de água.

Com relação aos PC, o TIAG também apresentou redução, havendo do primeiro para o segundo PC uma redução na ordem de 37,5%. Acredita-se que esse resultado tenha sido observado em razão do período de adaptação dos animais à DADE isenta de forragem. Nos primeiros dias de adaptação, os animais apresentaram fezes mais líquidas e menos consistentes. Assim, desidrataram até que os microrganismos ruminais se adaptassem e se estabelecessem, necessitando despender mais TIAG. Além disso, Sexson *et al.* (2012) verificaram que o aumento de PV de novilhos em confinamento aumentou o consumo de água até os animais atingirem 500kg de PV. Após atingirem os 500kg, houve uma redução na ingestão de água, que, segundo os autores, deveu-se ao aumento da deposição de tecido adiposo corporal.

No que diz respeito ao escore de sobra da dieta (ESD) e EF, esses parâmetros não apresentaram interação significativa (P>0,05) entre DCE e PC (Tab. 3). Com relação aos PC, verifica-se que tanto o ESD quanto o EF apresentaram diferença estatística (P<0,05), independentemente da DCE incluída na dieta (Tab. 3).

O ESD aumentou com o passar dos PC, variando, na média, entre os escores 2,18 e 2,32 (Tab. 3). Porém, sempre se manteve dentro do escore 2, que representava a relação 85:15 entre grão de milho e NPVM fornecida no cocho aos animais. Dessa forma, acredita-se que pelo fato

de o ESD ter sido uma avaliação visual, mesmo tendo apresentado diferença estatística, a seleção da dieta exercida pelos animais no decorrer do PC foi pequena para interferir nas avaliações dos parâmetros abordados.

O EF, com o passar do PC, apresentou aumento dos valores médios de escore, sendo a média de escore no primeiro PC de 2,88; no segundo PC, de 2,97; e no terceiro PC, de 3,12 (Tab. 3). Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de os animais terem apresentado fezes mais aquosas e pouco consistentes no início do experimento, quando em fase de adaptação à nova dieta.

A adaptação a uma DADE composta por forragem promove alteração da estrutura da população microbiana ruminal, o que permite o aproveitamento efetivo de carboidratos prontamente fermentáveis (Fernando *et al.*, 2010). Dessa forma, inicialmente a população de microrganismos degradantes de amido é de menor proporção e necessita se multiplicar para conseguir fermentar a grande carga de amido disponível no rúmen. Até o estabelecimento dessa população, o conteúdo de amido, o baixo teor de fibra em detergente neutro fisicamente efetivo (FDNfe) e o aumento da produção de ácido láctico, resultado da digestão do amido em nível intestinal, promovem aumento da pressão osmótica intraluminal, resultando no fluxo de água para o lúmen intestinal e, conseqüentemente, tornando as fezes mais amolecidas (Rowe *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2012).

Com a adaptação ruminal, a consistência fecal tornou-se menos líquida, com maior consistência e com pilhas pequenas de até 2,5cm, observando-se que, após adaptação, a dieta não promoveu distúrbios gastrointestinais que afetassem a consistência das fezes. E a adição do CE trouxe benefícios ao desempenho dos animais, já que se observou que, com o aumento da dose do CE, a CA melhorou linearmente.

Entretanto, apesar de o EF ter apresentado diferença estatística com o passar dos PC, na média, manteve-se normal, uma vez que, de acordo com Kononoff *et al.* (2002), o material fecal considerado normal para animais saudáveis tem consistência intermediária e forma cúpula

abobodada amontoada com 2,54 a 5,08cm de altura.

Com relação às DCE adicionadas à dieta, o escore de fezes não foi influenciado pelas DCE, apesar da redução linear da MSF com o aumento progressivo das doses de DCE (Tab. 2). Apenas o ESD apresentou diferença estatística significativa ($P < 0,05$) para DCE (Tab. 3). Tal parâmetro apresentou comportamento quadrático, em que o ponto de maior ESD foi verificado na dose de 3,54g animal dia⁻¹ do CE. Normalmente, ao excluir a fração volumosa da dieta, eleva-se o teor de matéria seca, fator que pode prejudicar a uniformidade da mistura da ração, principalmente no caso de dietas com milho inteiro, os quais podem segregar no comedouro e proporcionar consumo de nutrientes diferentes do que foi formulado, devido à falta de homogeneidade da ração. Esse fato pode ter favorecido os resultados encontrados com relação ao ESD.

Pode-se inferir que, na DCE de 3,54g animal⁻¹ dia⁻¹, os animais tenderam a selecionar melhor o grão de milho, restando apenas peletes de NPVM. Tal fato pode indicar que, nesta DCE, a DA do grão de milho não tenha atingido sua totalidade, permitindo fisiologicamente aos animais consumirem mais grãos de milho, sem que isso causasse distúrbio ruminal e intestinal, justamente por não ter sido atingido o ponto de máxima digestibilidade dos nutrientes da dieta, que, neste trabalho, foi na dose de 5,08g animal dia⁻¹ do CE. Porém, mesmo tendo sido significativa a diferença do ESD para as DCE, a seleção da dieta foi baixa, ficando entre 2,17 e 2,34, próximo da relação de grão de milho e NPVM fornecida no cocho, sendo, de certa forma, um resultado positivo.

CONCLUSÃO

A inclusão progressiva do complexo enzimático à dieta alimentar de alta densidade energética de novilhos confinados promoveu melhoria na conversão alimentar, redução na matéria seca das fezes e diminuição do tempo de ingestão de água. A dose de 5g animal⁻¹ dia⁻¹ do complexo enzimático à dieta alimentar de novilhos confinados aumentou a digestibilidade do amido e reduziu a produção diária de fezes na base seca.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M.S.; BRADFORD, B.J.; OBA, M. The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *J. Anim. Sci.*, v.87, p.3317-3334, 2009.
- BACH-KNUDSEN, K.E.; GLITSO, V. Methods for analysis of dietary fibre-advantage and limitations. *J. Anim. Feed Sci.*, v.6, p.185-206, 1997.
- BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.P.; MORGAVI, W.; YANG, Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.*, v.81, p.E37-E47, 2003.
- BEAUCHEMIN, R.A.; RODE, L.M.; MAEKAMA, M. *et al.* Evolution of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. *J. Dairy Sci.*, v.83, p.543-553, 2000.
- BRITO, F.O. *Níveis de complexo enzimático em dietas para ruminantes*. 2010. 84f Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga, SP.
- CARVALHO, S.; BERNARDES, M.C.; PIRES, C.C. *et al.* Efeito de dietas de alto grão sobre o comportamento ingestivo de cordeiros em confinamento. *Zootec. Trop.*, v.33, p.145-152, 2015.
- CARVALHO, S.; DIAS, F.D.; PIRES, C.C. *et al.* Comportamento ingestivo de cordeiros texel e ideal alimentados com casca de soja. *Arch. Zootec.*, v. 63, p.55-64, 2014.
- CHO, S.; MBIRIRI, D.T.; SHIM, K. *et al.* The Influence of feed energy density and a formulated additive on rumen and rectal temperature in hanwoo steers. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, v.8, p.1652-1662, 2014.
- CONE, J. W. Degradation of starch in feed concentrates by enzymes, rumen fluid and rumen enzymes. *J. Sci. Food Agric.*, v.54, p.23-34, 1991.
- CONE, J.W.; VLOT, M. Comparison of degradability of starch in concentrates by enzymes and rumen fluid. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, v.63, p.142-148, 1990.
- DiLORENZO, N.; SMITH, D.R.; QUINN, M.J. *et al.* Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. *Livest. Sci.*, v.137, p.178-184, 2011.
- FERNANDO, S.C.; PURVIS II, H.T.; NAJAR, F.Z. *et al.* Rumen microbial population dynamics during adaptation to high-grain diet. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.76, p.7482-7490, 2010.
- FERREIRA, S.; GUIMARÃES, T.; MOREIRA, K. *et al.* Caracterização fecal de bovinos. *Rev. Cient. Eletrôn. Med. Vet.*, v.20, p.1-22, 2013.
- GIUBERTI, G.; GALLO, A.; MASOERO, F. *et al.* Factors affecting starch utilization in large animal food production system: a review. *Starch/Stärke J.*, v.66, p.72-90, 2014.
- GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. *Forage fiber analysis: apparatus reagents, procedures and some applications*. Washington:, [s.n.], Agricultural Handbook, 1970. p.379.
- HENDRIX, D.L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Sci.*, v.33, p.1306-1311, 1993.
- 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 feed barley grain diets. *J. Anim. Sci.*, v.78, p.477- 487, 2000.
- HUNTINGTON, G.B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.852-867, 1997.
- KONONOFF, P.J.; HEINRICH, A.J.; VARGA, G. *Using manure evaluation to enhance dairy cattle*. Pennsylvania: The Pennsylvania State University, Department of Dairy and Animal Science [online], 2002. Disponível em: <<http://www.dairyweb.ca/Resources/USWebDocs/ManureEval.pdf>> Acessado em: 12 de janeiro de 2017.
- KRAUSE, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. *et al.* Fibrolytic enzyme treatment of barley grains and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle. *J. Anim. Sci.*, v.76, p.2912-2920, 1998.

- LOOPER, M.L.; STOKES, S.R.; WALDNER, D.N.; JORDAN, E.R. *Managing milk composition: evaluating herd potential. cooperative extension service college of agriculture and home economics. Guide D-104.* New Mexico: State University, 2001.
- LOURES, D.R.S.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. *et al.* Efeito de enzimas fibrolíticas e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, p.736-745, 2005.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, v.31, p.426-428, 1959.
- MOTA, N.; MENDOZA, G.D.; PLATA, F.X. *et al.* Effect of exogenous glucoamylase enzymes and reduction of grain level on lamb performance. *J. Appl. Anim. Res.*, v.39, p.129-131, 2011.
- NEUMANN, M.; FIGUEIRA, D.N.; UENO, R.K. *et al.* Desempenho, digestibilidade da matéria seca e comportamento ingestivo de novinhos holandeses alimentados com diferentes dietas em confinamento. *Semin. Ciênc. Agrár.*, v.36, p.1623-1632, 2015.
- NEUMANN, M.; LEÃO, G.F.M.; VIGNE, G.L.D. *et al.* Xylanase – complex efficacy in high-energy diet for bulls finished in feedlot. *Acta Sci.*, v.40, e37321, 2018.
- NUTRIENT requirements of beef cattle. 7.ed. rev. Washington: Natl. Acad. Press, 2000.
- OFFICIAL methods of analysis. 16.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1995. 2000p.
- OLIVEIRA, L.G.D.; FERREIRA, R.N.; PADUA, J.T. *et al.* Performance of beef cattle bulls in feed lots and fed on diets containing enzymatic complex. *Acta Sci. Anim. Sci.*, v.37, p.181-186, 2015.
- PEREYRA, H.; LEIRAS, M.A. Comportamento Bovino de alimentación, rumia y bebida. *Fleckvieh-Simental*, v.9, p.24-27, 1991.
- ROJO, R.; MENDOZA, G.D.; GONZÁLEZ, S.S. *et al.* Efectes of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.123-124, p.655-665, 2005.
- ROWE, J.B.; LEES, M.J.; PETHICK, D.W. Prevention of acidosis and laminitis associated with grain feeding in horses. *J. Nutr.*, v.124, p.2742S-2744S, 1994.
- SEXSON, J.L.; WAGNER, J.J.; ENGLE, T.E.; EICKHOFF, J. Predicting water intake by yearling feedlot steers. *J. Anim. Sci.*, v.90, p.1920-1928, 2012.
- SILVA, H.L.; FRANÇA, A.F.S.; FERREIRA, F.G.C. *et al.* Indicadores fecais de bovinos Nelore alimentados com dietas de alta proporção de concentrado. *Rev. Ciênc. Anim. Bras.*, v.13, p.145-156, 2012.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. *et al.* *Análises de solo, plantas e outros materiais.* 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim técnico, n.5).
- VAN SOEST, P.J. *Nutritiond ecology of the ruminant.* 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, v.74, p.3583-3597, 1991.
- WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; PIERRE, N.R.S. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *J. Anim. Feed Sci. Technol.*, v.39, p.95-110, 1992.
- YANG, H.E.; SON, Y.S.; BEAUCHEMIN, K.A. Effects of exogenous enzymes on ruminal fermentation and degradability of alfalfa hay and rice straw. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, v.24, p.56-64, 2011.