10.30612/agrarian.v11i42.7488

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Efeitos de enzimas fibrolíticas sobre a degradação *in situ* da matéria seca e da fibra de forrageiras

Effects of fibrolytic enzymes on the in situ degradation of the dry matter and fiber of forages

Giovani Antonio[1], Murilo Gaio Filla[1], Tiago Antonio Del Valle[1], Mariana Campana[1], Jozivaldo Prudêncio Gomes de Morais[1]

[1]Universidade Federal da São Carlos (UFSCar), Centro de Ciências Agrárias (CCA), Via Anhanguera, km 174, CEP: 13.600-970, Araras, SP, E-mail: tiagodelvalle@usp.br

Recebido em: 19/02/2018 Aceito em:19/03/2018

Resumo: Embora ruminantes aproveitem fibras dos alimentos, a degradação varia de acordo com a composição físico-química. Enzimas fibrolíticas tem sido utilizadas para aumentar a degradação ruminal de fibras, podendo otimizar o aproveitamento dos nutrientes. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da enzima fibrolítica xilanase e de um *blend* enzimático contendo xilanase, celulase e glucanase, em alimentos volumosos: feno de alfafa (*Medicago sativa*), capim-Braquiária (*Urochloa ruziziensis* syn *Brachiaria ruziziensis*) cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), capim-Mombaça (*Megathyrsus maximus* syn *Panicum maximum* cv. Mombaça) e silagem de milho (*Zea mays*). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições (vacas), para cada tratamento. Os tratamentos consistiram em uma pré-incubação por 12 horas em tampão de McDougall: 1) sem a adição de enzimas (CT); 2) com a adição de 200 mg/kg de matéria seca (MS) de amostra (XI); e com a adição de 200 mg kg^{-1} de MS de amostra (BL). Após a aplicação dos tratamentos, as amostras dos alimentos foram incubadas no rúmen das vacas, por 96 horas. O capim-Mombaça apresentou maiores degradações da MS e FDN que as demais forrageiras avaliadas. A xilanase tendeu a aumentar a degradação da fibra em detergente ácido (FDA) em relação ao controle. O *blend* enzimático aumentou a degradabilidade da MS e FDN, em relação ao CT e tendeu a aumentar a degradação da MS e da FDN em relação à XI. A adição do *blend* enzimático aumenta a degradação da MS e FDN, sendo uma estratégia enzimática recomendada na dieta de ruminantes.

Palavras-chave: digestão ruminal, fibra em detergente neutro, incubação , xilanase

Abstract: Although ruminants could utilize fiber of feeds, the degradation varies according to it physicochemical composition. Fibrolitic enzymes have been used to increase ruminal degradation of fibers, and can optimize the use of nutrients. The objective of this study was to evaluate the effect of the xylanase fibrolytic enzyme and an enzymatic blend containing xylanase, cellulase and glucanase in roughage: alfalfa hay (*Medicago sativa*), Brachiaria grass (*Urochloa ruziziensis* syn *Brachiaria ruziziensis*) sugarcane (*Saccharum officinarum*), Mombasa grass (*Megathyrsus maximus* syn *Panicum maximum* cv. Mombasa) and corn silage (*Zea mays*). The experimental design was completely randomized with 5 replicates (cows), for each treatment. Treatments consisted of a pre-incubation for 12 hours in McDougall's buffer: 1) without the addition of enzymes (CT); 2) with the addition of 200 mg xilanase per kg dry matter (DM) of sample (XI); and with the addition of 200 mg of enzymatic *blend* per kg sample MS (BL). After application of the treatments, the feed samples were incubated in the rumen of cows for 96 hours. Mombasa grass presented higher DM and NDF degradations than the other evaluated forages. The xylanase tended to increase the degradation of the acid detergent fiber (ADF) in relation to the control. The enzymatic *blend* increased degradation of DM and NDF in relation to the CT and tended to increase the degradation of DM and NDF in relation to XI. The addition of the enzymatic blend increased the degradation of DM and NDF, being recommended enzymatic strategy in the diet of ruminants.

Keywords: ruminal digestion, neutral detergent fiber, incubation, xylanase

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Introdução

Ruminantes têm a capacidade de transformar fibras, de baixo valor nutritivo e digestibilidade, em energia e proteína de alto valor biológico. Desta forma, alimentos volumosos são a base da alimentação destes animais (Macedo Junior et al., 2007). No entanto, a composição química dos alimentos volumosos, assim como as condições da digestão no animal (mastigação, salivação e pH ruminal) podem limitar o aproveitamento dos nutrientes contidos nestes alimentos (Alves et al., 2016).

Dentre as estratégias desenvolvidas com o objetivo de melhorar o aproveitamento de alimentos fibrosos estão os tratamentos químicos, biológicos e físicos, além da suplementação da dieta com alimentos concentrados, assim como a combinação desses (Cruz e Silva, 2016). Apesar dos avanços da pesquisa, a digestibilidade das forragens continua a limitar a ingestão de energia disponível para os ruminantes (Beauchemin et al., 2003). A inclusão de enzimas fibrolíticas pode complementar as atividades de enzimas endógenas do rúmen, auxiliando na quebra de frações fibrosas dos alimentos (Martins et al., 2007; Gandra et al., 2017). Resultados como a melhoria da disponibilidade de nutrientes (Romero et al., 2015) e da degradação de frações fibrosas em forrageiras (Feng et al., 1996; Ibañez et al., 2010) assim como aumento na produção de leite e teor de gordura (Lewis et al., 1996) e do ganho de peso em bovinos de corte (Beauchemin et al., 1995), comprovam o potencial de uso de preparações enzimáticas na dieta desses animais. No entanto, alguns trabalhos relatam que não há efeito positivo da suplementação enzimática sobre a digestão de nutrientes (Yang et al., 2000) e desempenho de vacas leiteiras (Peters et al., 2015; Silva et al., 2016), podendo essa ausência de resposta ser atribuída a especificidade das enzimas utilizadas.

Beauchemin et al. (1995) observaram que aplicação de enzimas diretamente no rúmen apresenta menor eficiência do que enzimas aplicadas nos alimentos, pois suas atividades podem ser influenciadas por fatores como pH, temperatura do corpo do animal, susceptibilidade das enzimas exógenas ao ataque das enzimas endógenas e hidrólise enzimática. A adição das enzimas fibrolíticas nos alimentos pode potencializar a degradação de polissacarídeos estruturais e assim aumentar a taxa de degradação da fração fibrosa e da matéria seca (MS). Já existe a possibilidade do uso de enzimas fibrolíticas comprovadas na alimentação de ruminantes. Todavia, são necessários estudos que auxiliem na compreensão da forma como as enzimas interagem com outras forrageiras, pois a maioria dos estudos foram feitos com dieta a base de forragens temperadas (Beauchemin et al., 2003; Romero et al., 2015).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de enzimas fibrolíticas xilanase e *blend* enzimático contendo xilanase, celulase e glucanase, sobre a degradação *in situ* da MS e das frações fibrosas em cinco alimentos volumosos utilizados na bovinocultura brasileira: feno de alfafa (*Medicago sativa*), capim-Braquiária (*Urochloa ruziziensis* syn *Brachiaria ruziziensis*) cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), capim-Mombaça (*Megathyrsus maximus* syn *Panicum maximum* cv. Mombaça) e silagem de milho (*Zea mays*). Nossa hipótese é de que a pré-incubação com enzimas fibrolíticas aumenta a degradação ruminal da FDN e da MS, independentemente da forrageira avaliada. Adicionalmente, a xilanase tem potencial de aumentar a degradação ruminal principalmente sobre a hemicelulose, enquanto que o *blend* enzimático aumenta a degradação de todos os componentes fibrosos dos alimentos.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas amostras de cinco alimentos volumosos: feno de alfafa (*Medicago sativa*), capim-Braquiária (*Urochloa ruziziensis* syn *Brachiaria ruziziensis*), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), capim-Mombaça (*Megathyrsus maximus* syn *Panicum maximum*cv. Mombaça) e silagem de milho (*Zea mays*). O feno de alfafa foi adquirido na Agropecuária AgroChiarato, em Pirassununga/SP. O capim-Braquiária foi coletado de uma área não adubada, no painel forrageiro da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - FZEA/USP. A cana-de-açúcar e o capim-Mombaça foram obtidos no Centro de Ciências Agrárias da UFSCar, sendo a cana-de-açúcar da cultivar RB835054, com BRIX 17,5; e o capim-Mombaça, coletado na área de pastagens (adubadas) do Grupo de Estudo e Trabalho - GETAP.

As amostras dos alimentos foram pré-secas à 60ºC durante 72 horas, processadas em moinho de facas com peneira com crivos de 1 e 2 mm. As

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

amostras moídas a 1 mm foram submetidas às análises físico-química (Tabela 1), no Laboratório de Bromatologia do Grupo de Estudos e Trabalho em Agropecuária, no Centro de Ciências Agrárias (UFSCar/Araras). As determinações da matéria seca (MS, AOAC 950,15), extrato etéreo (EE, AOAC 920,39) e proteína bruta (PB, AOAC, 984,13) foram realizadas de acordo com a metodologia da AOAC (2000). As análises de FDN, FDA, e lignina em detergente ácido (LDA) foram realizadas de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991). Os teores da hemicelulose foram obtidos através do cálculo da diferença entre FDN e FDA, enquanto que os teores da celulose foram obtidos através do cálculo da diferença entre a concentração de FDA e LDA (Van Soest et al., 1991).

As amostras destinadas a incubação no rúmen, foram acondicionadas em saquinhos de tecido não tecido (TNT) 100 g m^{-2}, com dimensões de 5 × 5 cm (Casali et al., 2008). Os saquinhos foram acondicionados em béquer para pré-incubação, por 12 horas. Os tratamentos consistiram em uma pré-incubação por 12 horas em tampão de McDougall: 1) sem a adição de enzimas (CONT); 2) com a adição de 200 mg kg^{-1} de MS de amostra xilanase (XI; (10000U g^{-1}, Beijing Smile Feed Sci. & Tech. Co., Ltd.); e com a adição de 200 mg kg^{-1} de MS de amostra de um *blend* enzimático (BL; xilanase (20000U g^{-1}), celulase (300U g^{-1}) e glucanase (2000U g^{-1}), Beijing Smile Feed Sci. & Tech. Co., Ltd.). A dose das enzimas foi determinada de acordo com as recomendações do fabricante. Para cada tratamento, foram utilizados 500 mL de uma solução de McDougall (g $litro^{-1}$: 9,8 de NaHCO3; 7 de $Na_2HPO \times 7H_2O$; 0,57 de KCl; 0,47 de NaCl; 0,12 de $MgSO_4 \times 7H_2O$ e 0,04 de $CaCl_2$) funcionando como saliva artificial (McDougall, 1948), e 10 mg de enzimas.

Tabela 1. Composição química (g kg^{-1} MS) dos alimentos utilizados nas incubações.

Item	Alimentos[1]				
	ALF	BRAQ	CANA	MOMB	SMILHO
Matéria seca, g kg^{-1} MN	884	224	256	188	272
Matéria orgânica	899	934	962	884	952
Proteína bruta	177	97	25,7	116	62,1
Extrato etéreo	8,51	18,2	6,19	14,5	24,8
Fibra em detergente neutro	647	657	490	736	569
Fibra em detergente ácido	378	250	262	342	301
Lignina em detergente ácido	97,4	28	36,3	24,5	28,0
Carboidratos não fibrosos[2]	66,5	162	440	17,5	296

[1]Alimentos incubados(ALF: Feno de Alfafa; BRAQ: *Urochloa ruziziensis*; CANA: Cana de açúcar; MOMB: *Megathyrsus maximus* cv. Mombaça; SMILHO: Silagem de milho) [2]Calculado de acordo com Hall 2000: CNF (g/kg) = 1000 - (EE+PB+Cinzas+FDN).

Foram utilizadas cinco vacas canuladas no rúmen, da raça Holandesa, previamente adaptadas à dietas com 60% da MS de silagem de milho. As incubações ruminais ocorreram por 96 horas (Ruiz et al., 2001). Após a retirada, os saquinhos foram lavados até o total clareamento e o resíduo obtido foi pré-seco (72 horas à 60 °C) e avaliado quanto ao teor de MS (1 h à 105°C), FDN, FDA e LDA, como previamente descrito. A digestibilidade *in situ* da matéria seca (DISMS) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$DISMS\ \left(\frac{g}{kg}\right) = 1 - MSi$$

Onde *MSi* é a concentração de matéria seca indigestível. A digestibilidade dos nutrientes (FDN, FDA, lignina, celulose e hemicelulose) foi calculada através da seguinte equação:

$$DISNut\ \left(\frac{g}{kg}\right) = 1 - \left[\frac{Nut\ resíduo\left(\frac{g}{kg}\right)}{Nut\ alimento\ \left(\frac{g}{kg}\right)}\right]$$

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo PROC MIXED do SAS 9.3, considerando o modelo a seguir:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + T_i \times A_j + v_k + e_{ijk}$$

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Onde, Y_{ijk} é o valor observado para o alimento *j*, submetido ao tratamento *i*, na *k*-ésima vaca; μ é a média geral; T_i é o efeito fixo do tratamento (enzima); A_j é o efeito fixo do alimento; $T_i \times A_j$ é o efeito fixo da interação entre tratamento e alimento; v_k é o efeito aleatório da vaca e e_{ijk} é o erro experimental. Os graus de liberdade foram corrigidos pela metodologia de Kramer et al. (1997) e as médias foram corrigidas pela função *lsmeans*. Quando houve interação entre tratamento e alimento, esta foi desmembrada pela função *slice*. Foi considerado nível de significância de 5% para todas as análises. Valores de P entre 5 e 10% foram declarados como tendência, sendo o valor exato de probabilidade apresentado.

Resultados

A adição de XI não afetou a degradação da MS, hemicelulose, FDN e LDA (P≥0,130; Tabela 2). No entanto, XI aumentou (P=0,014) a degradação da celulose e tendeu (P=0,082) a aumentar a degradação da FDA, em relação ao CT. Em relação ao controle, BL aumentou (P≤0,043) a degradação ruminal da FDN e da MS, sem afetar as demais frações avaliadas (P≥0,105). Em relação ao tratamento XI, BL tendeu (P≤0,078) a aumentar a degradação ruminal da hemicelulose e da MS.

Tabela 2. Efeito da utilização de enzimas fibrolíticas sobre a degradação *in situ* de plantas forrageiras.

Item	Tratamentos[1]			EPM[2]	Probabilidades (*P*)[3]				
	CT	XI	BL		AL	AL×	CT *vs* XI	CT *vs* BL	BL vs XI
Degradação *in situ*, g/kg									
Matéria seca	598	600	615	23,5	<0,001	0,647	0,763	0,038	0,078
Hemicelulose	558	551	581	30,2	<0,001	0,730	0,666	0,154	0,058
FDN	509	517	540	22,4	<0,001	0,798	0,603	0,043	0,137
Celulose	497	572	543	35,4	<0,001	0,025	0,014	0,130	0,317
FDA	434	485	481	21,8	<0,001	0,683	0,082	0,105	0,869
LDA	-2	86	21	22,8	0,664	0,808	0,130	0,684	0,244

[1]Tratamentos: controle (CT); enzima xilanase (XI) e blend enzimático (BL); [2]EPM: Erro padrão da média; [3]Probabilidades para os efeitos do alimento (Al), tratamento (Trat.), interação alimento × tratamento (Al×Trat); Valores de P para o teste de médias de PDIFF

Houve interação entre os efeitos de enzimas e de forrageira sobre degradação da celulose (P=0,025). Com exceção da silagem de milho, a degradação da celulose dos alimentos não foi afetada pela adição de enzimas (P≥0,157; Tabela 3). No entanto, a adição de XI à silagem de milho resultou em um aumento (P<0,001) da taxa de degradação da celulose, em relação aos demais tratamentos (CT e BL).

Para as demais frações avaliadas dos cinco alimentos foi detectado efeito isolado do tipo de alimento sobre a digestibilidade (g kg^{-1}) da MS, FDN, FDA, LDA e hemicelulose (Figura 1). A degradação da MS foi menor no feno alfafa quando comparado às forrageiras avaliadas (P≤0,05), e o mesmo comportamento, em geral, foi observado nas demais frações. A cana de açúcar também demonstrou degradação intermediária das frações em relação aos outros alimentos. A degradação da FDN e da hemicelulose foi maior para capim-Braquiária e capim-Mombaça e a maior degradação da FDA foi observada no capim-Mombaça e na silagem de milho.

Discussão

Os resultados obtidos mostram efeitos variados das duas enzimas sobre a degradação da hemicelulose e celulose. Estas frações são fermentadas pelos microrganismos do rúmen com relativa facilidade. Todavia, à medida que aumenta o teor de lignina, esta se complexa com esses carboidratos e o grau de fermentação diminui, podendo chegar até zero, dependendo da intensidade de lignificação (Pinto et al., 2003). Cada tipo de complexo lignocelulósico tem um grau máximo de fermentação pelos microrganismos, e este máximo pode ser alterado quando se faz um processamento do material fibroso (Beauchemin et al., 2003). A maior degradação da fração FDN em relação a FDA nos alimentos confirma que a lignina é fator limitante de degradação de fibras. Ademais, no presente estudo, os valores de degradação da LDA observados são muito baixos (35 g kg^{-1}), sem

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

qualquer diferença entre os tratamentos avaliados, reforçando a baixa disponibilidade da lignina.

Tabela 3. Desdobramento da interação entre alimentos e as enzimas fibrolíticas para a fração celulose.

Alimento	Tratamentos			EPM[2]	Probabilidades *(P)*[3]		
	CT	XI	BLEND		CT *vs* XI	CT *vs* BL	XI *vs* BL
Feno de Alfafa	431	404	433	43,8	0,707	0,972	0,668
Capim-Braquiária	494	548	538	43,5	0,434	0,547	0,883
Cana-de-açúcar	338	410	450	45,3	0,340	0,157	0,580
Capim-Mombaça	640	668	708	43,0	0,686	0,298	0,539
Silagem de milho	575	839	577	43,1	<0,001	0,974	<0,001

[1]Tratamentos (TRAT): controle (CT); enzima xilanase (XI) e blend enzimático (BL); [2]EPM: Erro padrão da média; [3]Probabilidades para os efeitos da interação alimento × tratamento (AL×TRAT) e dos Valores de P para o teste de médias de PDIFF.

A enzima xilanase aplicada isoladamente aumentou a degradação da hemicelulose, resultando em tendência de aumento da degradação da FDA. De acordo com Ibañez et al. (2010), a adição de enzimas exógenas pode potencializar a degradação da celulose contida na fração FDA, aumentando a sua degradabilidade. Dessa forma, a adição de enzimas exógenas pode potencializar a atividade enzimática ruminal (Martins et al., 2007). No presente estudo, houve interação entre os efeitos de enzima e alimento sobre a degradação da hemicelulose, em função de um pronunciado efeito positivo da xilanase sobre a degradação da celulose presente na silagem de milho. Dentre os volumosos avaliados no presente estudo, a silagem de milho difere dos demais por apresentar um elevado teor de amido, além de ser o único volumoso avaliado que passou pela fermentação durante a ensilagem, o que reduz o pH do material. Acredita-se que estas condições podem favorecer a atividade da xilanase, além de facilitar a solubilização dos compostos presentes na fração hemicelulose.

O *blend* enzimático demonstrou mais efeitos positivos sobre a degradação das frações fibrosas do que a enzima xilanase isoladamente. O *blend* enzimático apresenta em sua composição três enzimas (xilanases, celulases e glucanases), o que pode explicar seu maior potencial na degradação dos polissacarídeos, aumentando a digestibilidade da FDN e consequentemente a degradação da MS. Resultados semelhantes foram encontrados por Gandra et al. (2017), que constataram aumento da digestibilidade da MS e FDN em dieta a base de silagem de cana tratada com um produto enzimático contendo xilanase e celulase. De acordo com Martins et al. (2007), além de auxiliar na quebra dos componentes da parede celular das forrageiras, e potencializar a atividade das enzimas endógenas, o uso de enzimas exógenas também aumenta a adesão de microrganismos à parede celular. Lewis et al. (1996), também observaram aumento da degradação *in situ* da MS e FDN com a adição de um *blend* enzimático (celulase, xilanase e glucose) no feno de capim e cevada. Ainda, Feng et al. (1996) encontraram aumento do coeficiente da digestibilidade da MS e FDN, em estudo avaliando a degradabilidade *in vitro* e *in situ* com adição de enzimas (50:50 de celulase e xilanase), de forragens secas, frescas e reidratadas, observando que os maiores coeficientes foram detectados para forragens secas, indicando que o teor de umidade da forragem pode influenciar a efetividade das enzimas.

Interações entre a forragem e enzima fibrolítica sobre a degradação da matéria seca e da FDN podem não ter sido detectadas no presente estudo, por vários fatores inerentes à composição e conteúdo de MS de cada forrageira/alimento, e também devido à quantidade administrada de enzima. Beauchemin et al. (1995), avaliando o efeito de níveis de aplicação de enzimas fibrolíticas em diferentes volumosos (feno de alfafa, feno de Tifton e silagem de cevada), verificaram que a concentração das enzimas e a resposta animal (consumo, ganho em peso e digestibilidade) apresentaram comportamento diferente para cada volumoso, podendo estar relacionado à diferença na composição desses alimentos. Isto sugere uma provável dose que potencializa o efeito sobre os diferentes volumosos.

Estudos revelam que algumas das variações associadas ao uso de enzimas fibrolíticas na dieta de ruminantes podem estar relacionadas com adição insuficiente (Soltan et al., 2013) ou excessiva (Beauchemin et al., 1995; Kung Jr. et al., 2000) na quantidade de enzimas. Kung Jr. et al.

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

(2000) adicionaram doses crescentes de enzimas na dieta de vacas leiteira, constatando que os animais tratados com baixo nível de enzima tendem a produzir mais leite do que aqueles alimentados com a dieta controle ou alto nível de enzima. A baixa eficácia observada para altos níveis de enzimas nos trabalhos não está clara, pressupondo-se que altas doses de enzimas ligadas aos alimentos podem restringir a atividade microbiana e limitar a digestão dos nutrientes.

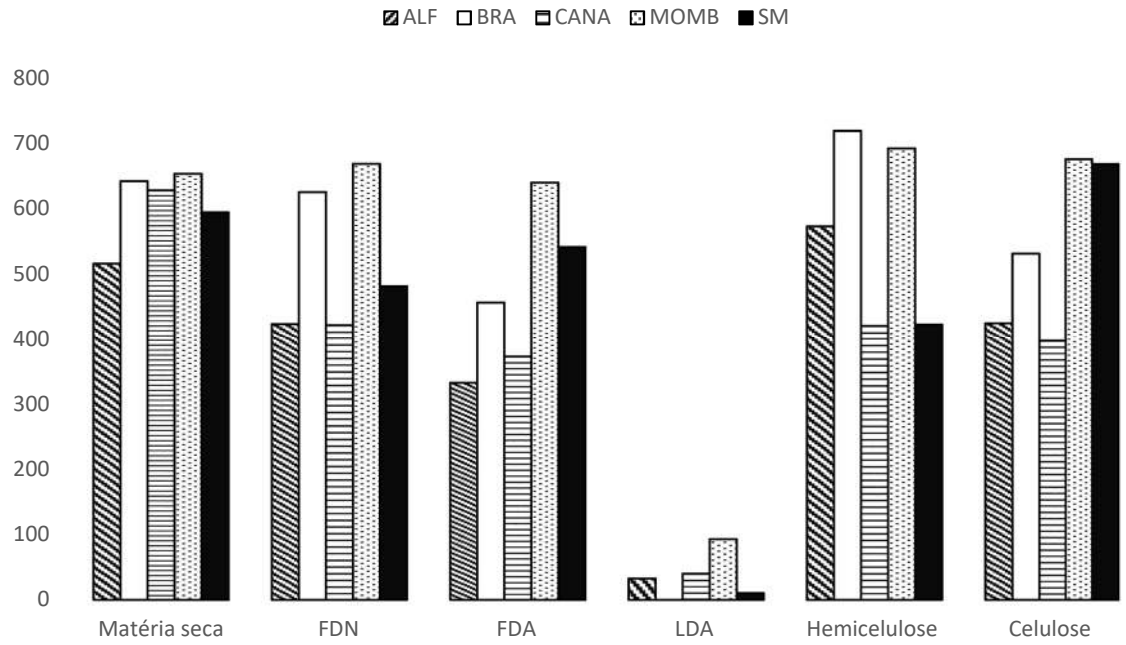

Figura 1. Degradação *in situ* de diferentes frações de cada alimento (ALF: feno de alfafa; BRAQ: capim-Braquiária; CANA: Cana-de-açúcar; MOMB: capim-Mombaça; SMILHO: silagem de milho).

Resultados encontrados neste e em outros trabalhos tem sido bastante variáveis, provavelmente em razão das enzimas utilizadas, substratos e modo de adição das enzimas na dieta dos ruminantes. Soltan et al. (2013) adicionaram dois produtos enzimáticos (celulase e xilanase) em forrageiras tropicais: capim-Aruanã *(Megathyrsus maximus* syn *Panicum maximum,* cv. Aruanã), napier (*Pennisetum purpureum*), braquiária (*Urochloa decumbens* syn *Brachiaria decumbens*), buffelgrass (*Pennisetum ciliare*), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e bagaço de cana-de-açúcar. Os autores observaram resultados semelhantes aos encontrados nesse trabalho, visto que houve resultados positivos da inclusão das enzimas fibrolíticas apenas para algumas forrageiras, indicando que a dosagem recomendada pelo fabricante deve variar de acordo com o tipo de alimento. Sendo assim, ressalta-se a importância de escolher corretamente a combinação do produto enzimático e o alimento a ser degradado, aumentando a chance de obtenção de melhores resultados.

Conclusão

A enzima xilanase aumentou a degradação da celulose, tendendo a aumentar a degradação da FDA, nos alimentos avaliados. A adição do *blend* enzimático aumentou a degradação da MS e FDN, representando maior potencial de inclusão na dieta de ruminantes para melhorar o aproveitamento de nutrientes de volumosos.

Referências

ALVES, A. R.; PASCOAL, L. A. F.; CAMBUÍ, G. B.; TRAJANO, J. S.; SILVA, C. M.; GOIS, G. C. Fibra para ruminantes: aspecto nutricional, metodológico e funcional. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.10, n.7, p.568-579, Jul., 2016.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis, 17th

ed. **Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, VA, USA.

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

BEAUCHEMIN, K. A; COLOMBATO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve animal feed utilisation by ruminants. **Journal Animal of Science**, v. 81., p. 37-47, 2003.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUES, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.

CRUZ, B.C.C.; SILVA, D.A. Tratamento químico e biológico em volumosos para ruminantes. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.10, p.224-234, 2016.

FENG, P.; HUNT, C.W.; PRITCHARD, G.T.; JULIEN, W.E. Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, p.1349-1357, 1996.

GANDRA, J. R.; MIRANDA, G.A.; GOES, R.H.T. TAKIYA, C.S.; DEL VALLE, T.A.; OLIVEIRA, E.R.; FREITAS JUNIOR, J.E.; GANDRA, E.R.S.; ARAKI, H.M.C.; SANTOS, A.L.A.V. Fibrolytic enzyme supplementation through ruminal bolus on eating behavior, nutrient digestibility and ruminal fermentation in Jersey heifers fed either corn silage- or sugarcane silage-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 231, p. 29-37, 2017.

HALL, M.B. Neutral detergent-soluble carbohydrates. Nutritional relevance and analysis. Gainesville: University of Florida, 2000, 76p.

IBAÑEZ, E.M.A.; MARTÍNEZ, G.D.M.; JUÁREZ, J.A.R.; BUENO, I.C.S.; VITTI, A.C. Efeito de enzimas fibrolíticas sobre a degradação microbiana ruminal da fibra de cana-de-açúcar. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p. 488-495, 2010.

KRAMER, J.K.C.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.R.; SAUER, F.D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, p. 1219-1228, 1997.

KUNG Jr., L.; TREACHER, R.J.; NAUMAN, G.A.; SMAGALA, A.M.; ENDRES, K.M.; COHEN, M.A. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 115-122, 2000.

LEWIS, G.E.; HUNT, C.W.; SANCHEZ, W.K.; TREACHER, R.; PRITCHARD, G.T.; FENG, P. 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, p. 3020-3028, 1996.

MACEDO JÚNIOR, G.L.; ZANINE, A.M.; BORGES, I.; PÉREZ, J.R.O. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal**, v. 17, p. 7-17, 2007.

MARTINS, A.S.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T.; PRADO, I.N.; LEMPP, B.; PAULA, M.C. Degradabilidade *in situ* e observações microscópicas de volumosos em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas exógenas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 1927-1936, 2007.

MCDOUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemistry Journal, Nashville**, v. 43, p. 99-109, 1948.

PETERS, A.; MEYER, U.; DANICKE, S. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on performance and blood profile in early and mid-lactation Holstein cows. **Animal Nutrition**. v.1, p. 229-238, 2015.

PINTO, A.P.; PEREIRA, E.S.; MIZUBUTI, I.Y.

Características nutricionais e formas de utilização de cana de açúcar na alimentação de ruminantes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, p. 73-84, 2003.

ROMERO, J.J.; ZARATE, M.A.; ARRIOLA, K.G.; GONZALES, C.F.; SANCHEZ, C.S.; STAPLES, C.R.; ADESOGAN, A.T. Screening exogenous fibrolytic enzyme preparations for improved *in vitro* digestibility of bermudagrass haylage. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 2555-2567, 2015.

RUIZ, R.; VAN SOEST, P. J.; VAN AMBURGH, M.E.; FOX D.G.; ROBERTSON, J.B. Use of chromium mordanted neutral detergent residue as a predictor of fecal output to estimate intake in grazing high production Holstein cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.89, p.155-164. 2001.

SILVA, T.H.; TAKIYA, C.S.; VENDRAMINI, T.H.A.; FERREIRA DE JESUS, E.; ZANFERARI, F.; RENNÓ, F.P. Effects of dietary fibrolytic enzymes on chewing time, ruminal fermentation, and performance of mid-lactating dairy cows. **Journal Animal Feed Science and Technology**, v. 221, p. 35-43, 2016.

SOLTAN Y.A., ABDALLA A.L., SILVA L.R.F., NATEL A.S., MORSY A.S., LOUVANDINI, H. Response of different tropical pasture grass species to treatments with fibrolytic enzymes in terms of in vitro ruminal nutrient degradation and methanogenesis. **Animal Nutrition and Feed Technology**, v. 13, p.551-568, 2013.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

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