

Parâmetros ruminais e desaparecimento da matéria seca e fibra em detergente neutro da forragem em bovinos que recebem levedura e enzimas fibrolíticas na dieta

Ruminal parameters and dry matter fiber and nitrogen detergent neutral disappearance in steers of which diet received yeast and fibrolytic enzymes

FRANCO, Gumercindo Loriano^{1*}; FERREIRA, Renato Fonseca²; ROCHA, Martha Teixeira da³; CYSNEIROS, Cristine dos Santos Settimi⁴; DIOGO, José Mauro da Silva⁵

¹Doutor em Zootecnia, UFMS/FMVZ, Departamento de Zootecnia, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Médico Veterinário, UNB/FAMEV, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

³Médica Veterinária, UNB/FAMEV, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

⁴Mestre em Ciências Agrárias, UFG, Escola de Veterinária, Goiânia, Goiás, Brasil.

⁵Doutor em Zootecnia, UNB/FAMEV, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

*Endereço para correspondência: gumercindo@nin.ufms.br

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito de aditivos sobre o pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) ruminal e o desaparecimento da matéria seca e da fibra em detergente neutro em bovinos que receberam feno e suplementados com 1,0 kg concentrado (em base seca). Foram utilizados quatro novilhos mestiços com peso vivo médio de 510 kg, providos de cânula permanente no rúmen, por onde foram efetuadas as amostragens de líquido ruminal e a coleta dos sacos de náilon. Constatou-se que a suplementação de bovinos com dietas contendo enzimas fibrolíticas e leveduras não influenciou (P>0,05) o N-NH₃ ruminal, cujos valores variaram de 17,40 a 18,89 mg/dL de líquido ruminal. No entanto, a interação enzima e levedura (P<0,05) levou à queda de pH ruminal, porém, com valores numa faixa normal de 6,63 a 6,48. Não se observou qualquer efeito (P<0,05) da suplementação no desaparecimento da matéria seca e da fibra em detergente neutro da forragem, sendo que os valores médios foram da ordem 47,6% e 40,71%, respectivamente. Fica evidente a necessidade de estudos mais aprofundados sobre o modo e local de ação das leveduras e enzimas para que se possa alcançar maior consistência nos resultados em trabalhos dessa natureza.

Palavras-chave: aditivos, *Aspergillus niger*, microbiota, novilhos, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma longibrachiatum*

SUMMARY

This work has evaluated additives effect on ruminal pH and ammonia nitrogen (NH₃-N) and the dry matter and neutral detergent fiber disappearance in beef cattle that received hay and 1000 g of concentrate (on dry matter basis). Four crossbred steers fitted were used, with a permanent ruminal cannula by which the ruminal liquid samples and nylon bags were collected. The bovines diet supplementation with fibrolytic enzymes and yeast have not influenced (P>0.05) the ruminal NH₃-N, with values from 17.40 to 18.89 mg/dL of ruminal liquid. However, the association of enzyme and yeast reduced (P<0.05) the pH value, and the decrease ranged from 6.63 to 6.48. There was no influence (P>0.05) on the disappearance of dry matter and neutral detergent fiber, after the supplementation, and average values were 47.6% and 40.71%, respectively. Actually, there is still lack of data concerning how and where the yeast and the enzymes act.

Keywords : additives, *Aspergillus niger*, microbiota, steer, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma longibrachiatum*

INTRODUÇÃO

Nos animais poligástricos, a degradação e fermentação dos constituintes da dieta pela ação de bactérias, protozoários e fungos anaeróbios ocorre no rúmen e retículo. Como resultado de complexo processo de hidrólise e de fermentação, os microrganismos fornecem ao animal energia e compostos nitrogenados, que lhe são vitais (FONTY & DURAND, 2006).

Tem havido grande interesse na manipulação da fermentação ruminal, com a finalidade de tornar o sistema de produção dos ruminantes mais eficiente, uma vez que o nível de produção depende da habilidade do ecossistema microbiano de converter matéria orgânica em precursores da carne e do leite. Por outro lado, a natureza do alimento fornecido ao animal é um dos muitos fatores que podem alterar o equilíbrio e atividade da flora microbiana, interferir no desempenho e conduzir a problemas de saúde. (MARTIN & NISBET, 1992; WALLACE, 1994).

A manipulação do ambiente ruminal, iniciada a partir do uso dos antimicrobianos ionóforos, obteve sucesso no que diz respeito à melhora na eficiência produtiva dos animais. Na seqüência, outros produtos passaram a ser utilizados na alimentação animal com o mesmo propósito, dentre os quais, os probióticos, com destaque para a levedura "*Saccharomyces cerevisiae*" e os aditivos à base de enzimas fibrolíticas (NEWBOLD et al., 1996).

Nesse sentido, objetivou-se com este trabalho foi avaliar o efeito da adição de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e de enzimas fibrolíticas, na dieta de bovinos alimentados com feno de baixa qualidade mais concentrado, sobre os parâmetros ruminais (pH e N-NH₃) e o desaparecimento da matéria seca e da fibra em detergente neutro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília (UnB), na Granja do Torto, em Brasília, DF, no período de março a julho de 2003. Os tratamentos constituíram-se de: suplemento concentrado – controle; suplemento concentrado associado à enzima fibrolítica, à base de 8 g/animal dia; suplemento concentrado associado à levedura, à base de 15 g/animal dia; suplemento concentrado associado à combinação de enzima fibrolítica (8 g/animal dia) e levedura (15 g/animal dia).

A levedura (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 - 5×10^8 UFC/g) e as enzimas fibrolíticas (FIBROZYME[®]) foram provenientes de fonte comercial (ALLTECH do Brasil). As enzimas fibrolíticas foram extraídas dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum*. Segundo Martins et al. (2006), que também utilizaram o FIBROZYME[®], o produto era constituído de celulase, xilanase e de um surfactante (extrato de *Yucca echinacea*), veículo com a função de aumentar o contato das enzimas com o substrato. A atividade enzimática foi de aproximadamente 100 unidades de xilanase (UX) por grama do produto comercial, o que corresponde à quantidade de enzima requerida para liberar um micromol de xilose, obtida em temperatura de 39° C e pH 4.

Foram utilizados quatro novilhos mestiços de peso vivo médio de 510 kg, providos de cânula permanente no rúmen, por onde foram efetuados o fornecimento do concentrado associado aos aditivos, as amostragens de líquido ruminal e a manipulação dos sacos de náilon. Os animais foram alojados em baias individuais, com bebedouro e cocho de alvenaria, alimentados uma vez ao dia, às 8 horas da manhã, com feno de Coast-cross *ad libitum*. O suplemento concentrado, fornecido na

quantidade de 1kg de matéria seca (MS) era constituído de milho (0,74kg), farelo de algodão (0,15kg), uréia (0,06kg) e mistura mineral (0,05kg), cuja composição bromatológica, assim como a do feno, é mostrada na Tabela 1.

Houve um período inicial de adaptação à ração experimental de 14 dias, seguidos de seis dias de coleta de dados, em quatro

períodos experimentais. Durante o período experimental, foi feito um controle diário da alimentação volumosa para que houvesse sobra de aproximadamente 10% do total oferecido. Após cada período, os animais foram ressorteados, de forma a não receberem o mesmo tratamento do período anterior. Ademais, passaram por novo período de adaptação.

Tabela 1. Composição bromatológica do feno de Coast-cross e do suplemento protéico-energético oferecidos a novilhos que receberam diferentes aditivos

Alimento	%MS						
	MS	PB	EE	FB	FDN	MM	NDT
Feno de Coast-cross	91,0	5,0	2,7	-	76,6	8,0	42,5 ¹
Suplemento protéico-energético	88,8	24,1	1,9	2,5	-	6,6	75,0 ²

MS – matéria seca; PB – proteína bruta; EE – extrato etéreo; FB – fibra bruta; FDN – fibra em detergente neutro; MM – matéria mineral; NDT – nutrientes digestíveis totais

¹NDT = 91,6086-0,669233(FDN)+0,437932(PB) (CAPELLE et al., 2001);

²Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos (VALADARES FILHO et al. 2006).

Para a determinação da degradabilidade, foi utilizada a técnica do saco de náilon, com poros do tecido de aproximadamente 50µm de diâmetro, nas dimensões de 7 x 14cm, selados nas bordas por fusão com resistência elétrica e devidamente identificados. Depois de pesados, receberam 5g da forrageira (feno), o que resultou numa relação de 25mg de amostra por cm² de área do saco de náilon. Após o enchimento, cada saco teve sua extremidade selada, seu peso registrado e foi preso a uma argola de metal de 1 cm de diâmetro, atado firmemente por um elástico.

Os sacos foram presos a uma argola de chaveiro, embebidos primeiramente em água por uma hora e presos a uma corrente de 50 cm ligada a uma âncora de 600g. Em seguida, foram introduzidos, via cânula, no rúmen, na ordem inversa dos horários de incubação (120, 96, 72, 48, 24, 12, 6, 3 horas), de modo a serem colocados todos sempre no mesmo horário. Dessa forma, foram incubados oito sacos por animal.

Retirados do rúmen, os sacos foram imediatamente imersos em água fria e lavados em máquina (tanquinho) por três ciclos de cinco minutos cada, ocorrendo troca da água entre os ciclos. Em seguida, foram colocados em estufa de ventilação forçada de ar, a 55°C, onde permaneceram por 48 horas para posterior esfriamento, pesagem e determinação da fibra em detergente neutro (FDN).

O procedimento para a determinação da fração solúvel consistiu em colocar em sacos de náilon a mesma quantidade de amostra utilizada para incubação, fechá-los e colocá-los em banho-maria por uma hora a 38°C, lavar em água corrente da mesma forma que os incubados e submeter à secagem em estufa. A perda de peso foi considerada a fração solúvel (fração “a” do modelo de MEHREZ et al., 1977).

A “degradação potencial” foi considerada aquela em que há estabilidade na degradação do substrato no decorrer dos horários de

incubação. Para o cálculo da taxa de degradação por hora, fração “c”, subtraíram-se da fração potencialmente degradável a parte solúvel (fração “a”) e a insolúvel (parte não degradada). A esses resultados foi aplicado o logaritmo neperiano “ln” e feita uma regressão linear simples, utilizando-se os horários de incubação para os valores de “x” e o “ln” dos valores de degradação para “y”. A fração “c” foi considerada como o valor da inclinação da reta obtida (HUNTINGTON & GIVENS, 1995)

As amostras de líquido ruminal foram coletadas no último dia de cada período, às 8:00 h (antes da suplementação) e às 10:00, 12:00, 14:00 e 20:00h (após a suplementação). A rotina obedeceu sempre à mesma seqüência dos animais, sendo feita uma coleta em vários pontos do rúmen, com formação de uma amostra de aproximadamente 2kg, que foi prensada através de saco de pano duplo para coleta de duas amostras de 50mL, com o objetivo de determinar o pH e a análise da concentração de N-NH₃ ruminal. O resíduo foi devolvido ao rúmen do animal.

O pH das amostras foi medido imediatamente após a coleta do líquido. Posteriormente, as amostras foram acidificadas com 3 gotas de H₂SO₄ concentrado, de forma que o pH permanecesse abaixo de 5,5, e, em seguida, congeladas. Ao final do experimento, depois do descongelamento, a concentração de N-NH₃ ruminal foi determinada após destilação, segundo técnica descrita por Fenner em 1965, adaptada por Vieira (1980). As análises químico-bromatológicas do suplemento concentrado, do feno de *Coast-cross* e dos resíduos de incubação dos sacos de náilon, foram feitas no Laboratório de Análise de Alimentos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UnB. Foram avaliados os teores de MS, matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB) e extrato etéreo (EE), de acordo com técnicas descritas pela “*Association of*

Official Analytical Chemistry” – AOAC (1990) e FDN, segundo recomendações de Van Soest et al. (1991).

Para as variáveis pH e N-NH₃ ruminal e desaparecimento da MS e FDN, o delineamento experimental foi o quadrado latino, com os tratamentos correspondendo às parcelas. Os horários de determinação de N-NH₃ ruminal, pH e desaparecimento corresponderam às subparcelas. As análises estatísticas das variáveis foram realizadas por meio do programa SAS (1985)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A suplementação com a enzima fibrolítica, com a levedura ou com a associação de ambos não influenciou ($P>0,05$) as concentrações de N-NH₃ ruminal. Não houve interação entre aditivos e horários de coleta (Tabela 2).

Observou-se, entretanto, diferença ($P<0,05$) do pH ruminal entre a suplementação com levedura e a associação enzima e levedura (Tabela 2). Apesar da diferença observada, os valores de pH estão acima do limite mínimo de 6,2, em que não há prejuízo na digestão da fibra, como assinalado por Hoover (1986), e não havendo expectativa para uma possível alteração na fermentação ruminal.

Como as dietas continham reduzido teor de açúcar e amido fermentável, não houve contribuição para o aumento de lactato com conseqüente diminuição do pH. Logo, a ação das leveduras sobre o pH ruminal ficou prejudicada. Além disso, o possível e feito da levedura, que contribui para uma resistência à queda no pH ruminal, estaria relacionado ao estímulo a protozoários que engolfam muito rapidamente os grânulos de amido (entodinomorfos) e liberam, como produtos finais, ácidos graxos voláteis, antes do lactato (FONTY & CHAUCHEYRAS-DURAND, 2006).

Tabela 2. Valores médios de N-NH₃ (mg/dL) e pH ruminal obtidos mediante suplementação de bovinos, com enzima fibrolítica, levedura e associação enzima-levedura, e horários

Parâmetros	Controle	Aditivos			Valor P	CV (%)	
		Enzima	Levedura	Enzima e levedura			
N-NH ₃	17,40 ^a	18,87 ^a	17,40 ^a	17,40 ^a	0,9341	48,90	
pH	6,51 ^{ba}	6,56 ^{ba}	6,63 ^a	6,48 ^b	0,0216	2,30	
Parâmetros	Horários					Valor P	CV (%)
	8:00	10:00	12:00	14:00	20:00		
N-NH ₃	11,01 ^c	24,38 ^{ba}	25,16 ^a	19,66 ^b	8,64 ^c	0,0001	28,47
pH	6,49 ^{ba}	6,60 ^{ba}	6,63 ^a	6,56 ^{bac}	6,43 ^c	0,0011	2,18

^{a,b,c}Médias seguidas de letras iguais nas linhas não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

Em experimento com novilhos que consumiram dieta com relação volumoso e concentrado de 70:30 e suplementados com enzimas fibrolíticas (celulase e xilanase) Lewis et al. (1996), também não foram notadas alterações nos parâmetros ruminais pH e N-NH₃.

A análise de alguns estudos *in vitro* sugeriram mudanças no metabolismo do nitrogênio no rúmen pelo uso da levedura (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2005). Essa poderia influenciar o crescimento e a atividade das bactérias proteolíticas no rúmen, pela limitação de sua ação sobre proteínas e peptídeos, através da competição por suprimento de energia e pelo efeito inibitório sobre as peptidases (FONTY & CHAUCHEYRAS-DURAND, 2006).

Verificou-se diferença (P<0,05) entre alguns horários de coleta para os valores médios de N-NH₃ ruminal e, assim, uma ocorrência de maiores valores às 10 e 12 horas, ou seja, duas e quatro horas após a suplementação, enquanto os menores valores foram observados às 8 e 20 horas (Tabela 2). Os maiores valores de N-NH₃ ruminal, logo nas primeiras horas após a alimentação, se devem à maior solubilização da proteína e do nitrogênio não-protéico fornecidos aos animais. Tais valores tendem a se reduzir à

medida que aumenta o período pós-alimentação.

A concentração média de N-NH₃ ruminal foi de 17,8mg/dL, bastante acima dos valores tidos como limitantes à síntese microbiana, os quais, segundo Satter & Slyter (1974), seriam de 5mg/dL e, para Van Soest (1994), de 10mg/dL. Ainda assim, as concentrações de N-NH₃ ruminal não limitaram a eficiência de síntese microbiana.

Comportamento semelhante ao observado para o N-NH₃ ruminal nos diferentes horários de coleta foi encontrado para o pH do líquido ruminal, em que os menores valores foram verificados às 8 e 20 horas (Tabela 2). A coincidência dos horários para os valores máximos de pH e de N-NH₃ ruminal se deve ao fato de, logo após a alimentação, a proteólise dos alimentos que chegam ao rúmen levar à produção de N-NH₃ que, juntamente com a ruminação, contribui para a neutralização do meio ruminal e, conseqüentemente, para a elevação do pH. Com o passar do tempo, à medida que a atividade proteolítica bacteriana vai se reduzindo, há diminuição na liberação de N-NH₃ e conseqüente redução da neutralização do meio ruminal, como foi observado às 20 horas.

Ressalta-se que as diferenças observadas para o pH ruminal, tanto em relação ao tipo

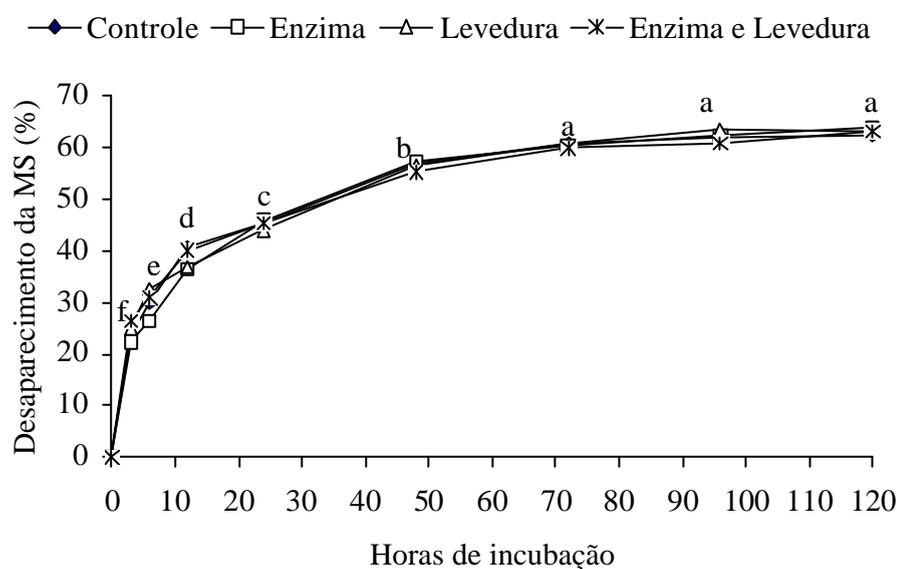
de aditivo como aos horários de coleta, só foram possíveis devido ao baixo coeficiente de variação dos dados, de 2,3%.

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os aditivos, tampouco entre qualquer aditivo ou sua associação em relação ao tratamento controle, tanto para o desaparecimento da MS como para o FDN (Tabelas 3 e 4). Também não houve interação dos tratamentos com os tempos de incubação. Porém, houve diferença significativa entre os tempos de incubação. À medida que se elevou o tempo de incubação, o desaparecimento da MS e FDN aumentou, sendo o desaparecimento potencial alcançado com 72 horas de incubação, para ambas as frações (Figuras 1 e 2).

Alguns estudos *in vitro* evidenciaram o efeito da utilização de leveduras sobre o crescimento e a atividade dos

microorganismos fibrolíticos no rúmen. As leveduras poderiam aumentar a colonização da parede celular pelos fungos por meio do suprimento de tiamina ou da retirada de oxigênio do meio ruminal, melhorando o ambiente para a maioria dos microorganismos ruminais que são altamente sensíveis ao oxigênio (FONTY & CHAUCHEYRAS-DURAND, 2006).

Mediante avaliação das dietas compostas de silagem de cevada e cevada grão, Beauchemin et al. (1999) verificaram aumento de 58,8% para 61,7% na digestibilidade total da FDN com a adição de enzimas, porém não notaram efeito sobre o consumo e a digestão ruminal dos nutrientes. Os parâmetros de degradação ruminal descritos por Huntington & Givens (1995), calculados para a MS e FDN da forragem são mostrados nas Tabelas 3 e 4.



Médias seguidas de letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

Figura 1. Desaparecimento ruminal da matéria seca (MS) do feno de *Coast-cross* (%) nos tempos de incubação, em novinhos recebendo diferentes aditivos

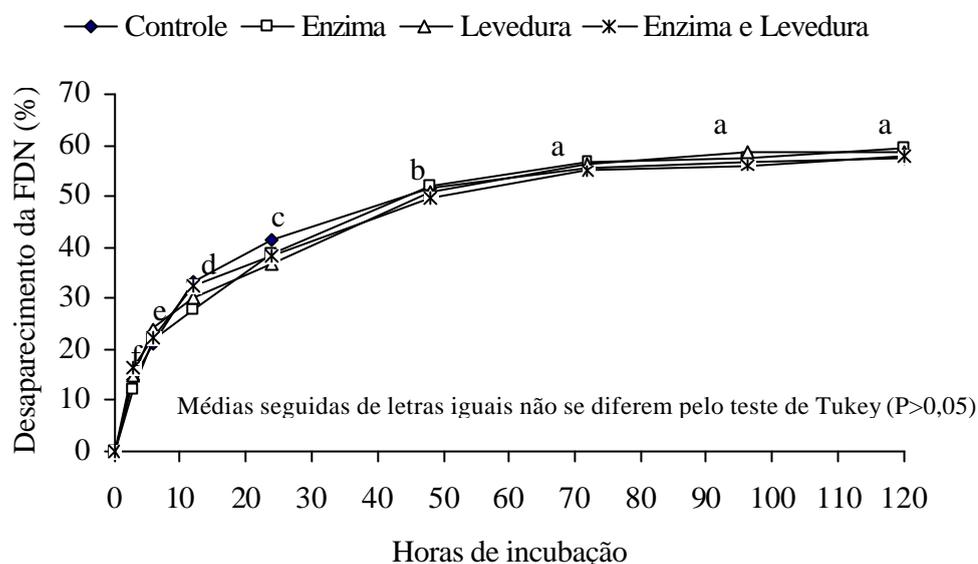


Figura 2. Desaparecimento ruminal da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de *Coast-cross* (%) nos tempos de incubação, em novinhos recebendo diferentes aditivos

Tabela 3. Parâmetros de degradação da matéria seca do feno de *Coast-cross* obtidos com a suplementação de bovinos com enzima fibrolítica, levedura e associação enzima-levedura

Parâmetros	Controle	Aditivos			Média
		Enzima	Levedura	Enzima e levedura	
a (%)	19,78	18,80	19,10	18,90	19,15
b (%)	41,80	42,46	42,67	41,38	42,08
c (%/hora)	4,54	4,59	3,97	4,15	4,31
DE (5%)	39,58	40,11	38,52	37,54	39,94

a – fração solúvel; b – fração insolúvel potencialmente degradável; c – taxa constante de degradação; DE – degradação efetiva a 5%/hora.

Tabela 4. Parâmetros de degradação da fibra em detergente neutro do feno de *Coast-cross* obtidos com a suplementação de bovinos com enzima fibrolítica, levedura e associação enzima-levedura

Parâmetros	Controle	Aditivos			Média
		Enzima	Levedura	Enzima e levedura	
b (%)	56,69	57,60	58,29	56,32	57,23
c (%/hora)	4,62	4,53	3,81	4,07	4,26
DE (5%)	27,02	27,35	25,04	23,99	25,85

b – fração insolúvel potencialmente degradável; c – taxa constante de degradação; DE – degradação efetiva.

Considerou-se para as médias de todos os tratamentos a constante “*a*” do modelo, que representa a fração solúvel, e indicou-se que aproximadamente 19,15% da MS da forragem foi rapidamente solubilizada. A fração “*b*”, correspondente à parte insolúvel potencialmente degradável, ficou ao redor de 42,08% da MS. Por fim, a taxa fracional constante de degradação, representada por “*c*”, foi igual a 4,31%/hora. A soma das frações “*a*” e “*b*”, cujo valor foi de 61,23%, representa a MS potencialmente degradável no rúmen.

Para a FDN, a fração *b* foi igual a 59,23% da fibra e, com taxa fracional constante de degradação “*c*”, correspondeu a 4,26%/hora. A degradação efetiva (DE), com taxa de passagem de 5%, foi de 39,94% e 25,85% para a MS e FDN, respectivamente.

O fornecimento da enzima fibrolítica, das leveduras e de sua associação neste experimento foi superior ao recomendado pelo fabricante, o que assegurou que não houvesse limitação do efeito do aditivo pela quantidade fornecida. Mas, então, por que as leveduras e enzimas fibrolíticas não tiveram efeito no presente estudo? Inicialmente, verificou-se que as condições do ambiente ruminal, como as concentrações de N-NH₃ e pH, foram ótimas para as bactérias fibrolíticas, o que proporcionou uma competição pelo substrato e fez com que a contribuição das enzimas ficasse muito diluída. Em experimento para avaliar o efeito de diferentes métodos de aplicação das enzimas fibrolíticas sobre as características digestivas de novilhos, Lewis et al. (1996) não observaram efeito de enzimas fornecidas via cânula ruminal, em comparação ao fornecimento direto sobre a forragem. As enzimas poderiam ter sido digeridas ou suspensas na fase fluida do conteúdo ruminal, e eliminadas do rúmen antes de um contato suficiente com as partículas de alimento para hidrólise.

A suplementação de dietas de bovinos com enzimas fibrolíticas, leveduras ou a

associação enzima e levedura não influencia o nitrogênio amoniacal no líquido de rúmen. A associação de enzima fibrolítica e levedura promove queda no pH, porém, os valores permanecem na faixa de normalidade do ambiente ruminal. Não há influência no desaparecimento da MS e FDN do feno, após a suplementação.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 15. ed. Virginia: Arlington, 1990. 1117p.
- BEAUCHEMIN, K.A.; YANG, W.Z.; RODE, L.M. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.2, p.378-390, 1999.
- CAPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1837-1856, 2001.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; MASSÉGLIA, S.; FONTY, G. Effect of the microbial feed additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 on protein and peptide degrading activities of rumen bacteria grown *in vitro*. **Current Microbiology**, v.50, n.2, p.96-101, 2005.
- FONTY, G.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen. **Biologia**, v.61, n.6, p.741-750, 2006.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.

HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. **Nutrition Abstracts Review**, v.65, n.2, p.63-93, 1995.

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, n.12, p.3020-3028, 1996.

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.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T.; PRADO, I.N.; CANESIN, R.C.; SETTI, M.C. Taxa de passagem e parâmetros ruminiais em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1837-1193, 2006.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal Nutrition**, v.38, n.3, p.437-443, 1977.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; McINTOSH, F.M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v.76, n.2, p.249-261, 1996.

SAS INSTITUTE. **User's guide** : statistics. 5.ed. Cary, 1985. v.1, 956p.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition**, v.32, n.1, p.199-208, 1974.

VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CAPELLE, E.R. (Ed). **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2006. 329p.

VAN SOEST, P. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

WALLACE, R. J. Ruminant microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, v.72, n.1, p.92-3003, 1994.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em ração para ruminantes**. 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Data de recebimento: 09/12/2007

Data de aprovação: 15/07/2008