

HOSNERSON RENAN DE OLIVEIRA SANTOS

**EFEITO DE ENZIMAS EXÓGENAS EM SILAGEM DE SORGO EXCLUSIVA OU
NA FORMA DE RAÇÃO EM MISTURA TOTAL SOBRE O PERFIL
FERMENTATIVO E DESEMPENHO DE CORDEIROS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Odilon Gomes Pereira

Coorientadores: Sebastião C. Valadares Filho
Karina Guimarães Ribeiro

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus**

T	Santos, Hosnerson Renan de Oliveira, 2024-
S237e	Efeito de enzimas exógenas em silagem de sorgo exclusiva ou na
2023	forma de ração em mistura total sobre o perfil fermentativo e desempenho de cordeiros / Hosnerson Renan de Oliveira Santos. - Viçosa, MG, 2023.
	1 tese eletrônica (68 f.): il.
	Orientador: Odilon Gomes Pereira
	Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, 2023.
	Inclui bibliografia.
	DOI: https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.058
	Modo de acesso: World Wide Web.
	1. Rações - Aditivos; 2. Enzimas fibrolíticas; 3. Cordeiros - Registros de desempenho; 4. Sorgo -Silagem; 5. Digestibilidade; I. Pereira, Odilon Gomes II. Universidade Federal de Viçosa.. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia III. Título
	CDD 22. ed. 636.39855

Bibliotecário(a) responsável: ALICE REGINA PINTO PIRES CRB-6/2523


HOSNERSON RENAN DE OLIVEIRA SANTOS

**EFEITO DE ENZIMAS EXÓGENAS EM SILAGEM DE SORGO EXCLUSIVA OU
NA FORMA DE RAÇÃO EM MISTURA TOTAL SOBRE O PERFIL
FERMENTATIVO E DESEMPENHO DE CORDEIROS**


Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 04 de Julho de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **HOSNERSON RENAN DE OLIVEIRA SANTOS**
Data: 19/02/2024 14:19:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Hosnerson Renan de Oliveira Santos
Autor

Documento assinado digitalmente
 **ODILON GOMES PEREIRA**
Data: 19/02/2024 08:05:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Odilon Gomes Pereira
Orientador

Aos

*meus pais, Osvaldo (in memoriam) e Vani,
que foram o início de tudo*

Aos

*meus irmãos, Hélcia, Kássio e Hélbya
pelo estímulo*

A

*Minha noiva, Dreice
Pelo apoio e companheirismo*

Aos

*meus mestres,
pelos ensinamentos e orientações*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar que no momento que sou fraco, é quando sou forte, e a Nossa Senhora pela proteção e pela intercessão junto a Deus pai nas minhas orações.

À minha mãe Vani de Oliveira Santos e ao meu pai Osvaldo Ferreira dos Santos (*in memoriam*), por todo amor, apoio, carinho.

Aos meus irmãos, Hércia, Kássio e Hélybya, pela atenção, carinho e incentivo para conclusão do doutorado.

À minha noiva Dreice Nascimento, pelo amor, apoio, carinho e amizade de sempre.

Ao Professor Odilon Gomes Pereira pela orientação, confiança, oportunidade e ensinamentos durante esse período.

Ao Prof. Dr. Sebastião de Campos Valadares Filho e a Profa. Dra. Karina Guimarães Ribeiro, pela coorientação, ensinamentos e pela contribuição no decorrer do trabalho.

À professora Karina Costa Busato pelo apoio na condução do experimento e por ceder os animais utilizados.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Cecon e à Profa. Dra. Érica Beatriz Schultz por tirarem todas as dúvidas em relação a estatística e pelas sugestões.

Ao meu amigo Dr. Alberto Macêdo pelas correções, sugestões e orientações, sempre disposto a colaborar com o trabalho.

À Dra. Vanessa Paula pelas correções e sugestões no projeto, além de contribuir na análise estatística dos dados.

À Roberta Josiele pela ajuda, apoio e empenho na condução do experimento com os animais e realização das análises laboratoriais.

Aos amigos do Laboratório de Forragicultura e Microbiologia da Silagem da UFV, por toda amizade, apoio e ajuda sempre que necessária: Alberto Macêdo, Wagner Sousa, Felipe Pimentel, Gabriela Duarte, Felipe Almeida, Gabriela Freitas, Vanessa Paula, Thiago Neves, Eloy Rezende e Pauliane Pucetti. Agradeço de coração a todos vocês.

Aos estagiários que sempre estavam dispostos a ajudar nas análises e na condução do experimento: Arthur, Cecília, Nathália, Gabriella, Eduardo, Rafael e tantos outros que contribuíram para essa tese.

Aos amigos e colegas que fiz durante a fase de doutoramento: Ingrid, Alberto, Wagner, Eloy, Jamil, Eduardo, Gabi Duarte, Gabi Freitas, Vandinho, Felipe, João, Priscila, Lucas e Rebert, pela amizade e bons momentos de curtição e convívio.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da UFV por todo o apoio e por sempre estarem dispostos a ajudar: Mauro, “Pinguim”, Fernanda, Gabriel, José Flávio e Bernadette.

À Universidade Federal de Viçosa por ter possibilitado desenvolver este trabalho e de realizar o meu doutorado.

A todos os professores que compartilharam seus conhecimentos e aos que fazem parte do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFV.

Aos funcionários Vilmar e Divino da UEPE – Agrostologia, pela ajuda e amizade.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa, o meu muito obrigado!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do INCT-CA.

“Por isso não tema, pois estou com você; não tenha medo, pois sou o seu Deus. Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa”

“Isaias 41:10”

“Deus não escolhe os capacitados, mas capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança”

“Albert Einstein”

“Tudo posso naquele que me fortalece”

“Filipenses 4.13”

BIOGRAFIA

HOSNERSON RENAN DE OLIVEIRA SANTOS, filho de Osvaldo Ferreira dos Santos e Vani de Oliveira Santos, nasceu em 13 de setembro de 1991, em Bom Jesus da Lapa, Bahia.

Em fevereiro de 2016 formou-se no curso de Agronomia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB - BA. Ingressando Em abril do mesmo ano no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UESB, concentrando os estudos na área de nutrição e alimentação de ruminantes, concluindo em março de 2018.

Em agosto de 2018, ingressou no Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, na área de Forragicultura e Pastagens, submetendo-se à defesa da tese em 04 de julho de 2023.

RESUMO

SANTOS, Hosnerson Renan de Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2023. **Efeito de enzimas exógenas em silagem de sorgo exclusiva ou na forma de ração em mistura total sobre o perfil fermentativo e desempenho de cordeiros.** Orientador: Odilon Gomes Pereira. Coorientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Karina Guimarães Ribeiro.

Esta tese foi dividida em dois capítulos: **Capítulo 1** – Objetivou-se avaliar o efeito de doses crescentes de um *blend* enzimático (BENZ) em silagem de sorgo biomassa. Foi usado o delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições. As doses de BENZ avaliadas foram: 0; 3; 6 e 9 g/kg de matéria seca (MS). As variáveis pH e carboidratos solúveis em água (CHOs) ajustaram-se a modelos lineares decrescente ($P = 0,010$) e crescente ($P = 0,001$), respectivamente. A concentração de N-NH₃ (g/kg NT) não se ajustou a nenhuma equação ($P > 0,05$). Os teores de FDN, FDA, hemicelulose, celulose, lignina e FDNcp ajustaram-se ao modelo linear decrescente ($P < 0,05$) em função das doses de BENZ. Não houve efeito ($P > 0,05$) das doses de BENZ sobre a população de bactérias do ácido lático (BAL), fungos filamentosos (FUN) e leveduras (LEV), com valores médios de 8,26; 2,24 e 3,59 log ufc/g, respectivamente. Para os parâmetros da degradabilidade da MS, a fração “a” (fração solúvel) e a degradabilidade efetiva a 8%/h ajustaram-se ao modelo quadrático ($P = 0,03$), a fração “b” e a degradabilidade potencial ajustaram-se ao modelo linear crescente ($P < 0,05$), enquanto que a fração “c” e a degradabilidade efetiva a 5%/h, ajustaram-se ao modelo linear decrescente ($P < 0,05$). Não houve efeito ($P > 0,05$) das doses de BENZ para as variáveis da degradabilidade da FDN, fração “b” (potencialmente degradável) e “I” (indigestível) das silagens. O uso de BENZ altera positivamente o perfil fermentativo, resulta em menores valores da fração fibrosa, e maiores valores da fração potencialmente digestível e da degradabilidade potencial, no entanto, não apresenta efeito sobre a degradabilidade da FDN. Assim, recomenda-se a adição de 9 g/kg MS de BENZ-9 na ensilagem de sorgo biomassa AGRI 002E. **Capítulo 2** – Objetivou-se avaliar o efeito de dois métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas na silagem de ração em mistura total à base de sorgo forrageiro. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e oito repetições. Foram utilizados 24 cordeiros F1 Santa Inês × Dorper, com peso médio de $24,91 \pm 3,52$ kg. Os tratamentos corresponderam a silagem de dieta completa (TMR), contendo sorgo forrageiro como fonte de forragem, sem aplicação de enzimas fibrolíticas (ENZF) (TMR-SE), silagem de TMR com aplicação de ENZF no momento da ensilagem (TMR-EE), e silagem de TMR com aplicação de ENZF no momento

da alimentação dos animais (TMR-ET). Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$) sobre consumo de MS, matéria orgânica (MO), PB, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), extrato etéreo (EE), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), apresentando valores médios de 1314,5; 1228,9; 184,6; 363,1; 122,8; 41,39; 675,1; 890,4 g/dia, respectivamente. Também não houve efeito ($P > 0,05$) de tratamento sobre a digestibilidade total da MS, MO, PB, FDNcp, EE, CNF, apresentando valores médios de 652,38; 675,28; 634,93; 365,37; 885,79; 836,70 g/kg MS, respectivamente. O desempenho animal também não foi influenciado ($P > 0,05$) pela forma de aplicação de ENZF. A adição de enzimas fibrolíticas exógenas em silagem de TMR à base de sorgo forrageiro, na ocasião da ensilagem ou no momento de alimentação dos animais, não altera o consumo, nem a digestibilidade dos nutrientes.

Palavras-chave: Enzimas fibrolíticas; Consumo de nutrientes; Digestibilidade; Sorgo boliviano.

ABSTRACT

SANTOS, Hosnerson Renan de Oliveira, D.Sc., Federal University of Viçosa, July 2023. **Effect of exogenous enzymes in exclusive sorghum silage or in the form of a total mixture on the fermentative profile and performance of lambs.** Adviser: Odilon Gomes Pereira. Co-advisers: Sebastião de Campos Valadares Filho and Karina Guimarães Ribeiro.

This thesis was divided into two chapters: Chapter 1 – The objective was to evaluate the effect of increasing doses of an enzyme blend (BENZ) on sorghum silage biomass. A completely randomized design with four treatments and four replications was used. The doses of BENZ evaluated were: 0; 3; 6 and 9 g/kg of dry matter (DM). The variables pH and water-soluble carbohydrates (CHOs) were adjusted to decreasing ($P = 0.010$) and increasing ($P = 0.001$) linear models, respectively. The concentration of N-NH₃ (g/kg NT) did not fit any equation ($P > 0.05$). The contents of NDF, ADF, hemicellulose, cellulose, lignin and NDFcp were adjusted to the decreasing linear model ($P < 0.05$) as a function of the BENZ doses. There was no effect ($P > 0.05$) of BENZ doses on the population of lactic acid bacteria (BAL), filamentous fungi (FUN) and yeast (LEV), with average values of 8.26; 2.24 and 3.59 log cfu/g, respectively. For the DM degradability parameters, the fraction "a" (soluble fraction) and the effective degradability at 8%/h were adjusted to the quadratic model ($P = 0.03$), the fraction "b" and potential degradability fit the increasing linear model ($P < 0.05$), while the fraction "c" and effective degradability at 5%/h fit the decreasing linear model ($P < 0.05$). There was no effect ($P > 0.05$) of BENZ doses on the variables of NDF degradability, fraction "b" (potentially degradable) and "I" (indigestible) of silages. The use of BENZ positively alters the fermentative profile, resulting in lower values of the fibrous fraction, and higher values of the potentially digestible fraction and potential degradability, however, it has no effect on the degradability of NDF. Therefore, it is recommended to add 9 g/kg DM of BENZ-9 to silage sorghum biomass AGRI 002E. Chapter 2 – The objective was to evaluate the effect of two methods of applying fibrolytic enzymes to feed silage in a total mixture based on forage sorghum. A completely randomized design was used with three treatments and eight replications. 24 F1 Santa Inês × Dorper lambs were used, with an average weight of 24.91 ± 3.52 kg. The treatments corresponded to complete diet silage (TMR), containing forage sorghum as a forage source, without application of fibrolytic enzymes (ENZF) (TMR-SE), TMR silage with application of ENZF at the time of ensiling (TMR-EE), and TMR silage with application of ENZF when feeding the animals (TMR-ET). There was no treatment effect ($P > 0.05$) on the consumption of DM, organic matter (OM), CP, neutral detergent fiber corrected for ash and protein (NDFcp), indigestible neutral

detergent fiber (iNDF), ether extract (EE), non-fibrous carbohydrates (CNF) and total digestible nutrients (NDT), presenting average values of 1314.5; 1228.9; 184.6; 363.1; 122.8; 41.39; 675.1; 890.4 g/day, respectively. There was also no effect ($P > 0.05$) of treatment on the total digestibility of DM, OM, CP, NDF, EE, CNF, presenting average values of 652.38; 675.28; 634.93; 365.37; 885.79; 836.70 g/kg DM, respectively. Animal performance was also not influenced ($P > 0.05$) by the form of ENZF application. The addition of exogenous fibrolytic enzymes to TMR silage based on forage sorghum, at the time of ensiling or when feeding the animals, does not alter the consumption or digestibility of nutrients.

Keywords: Fibrolytic enzymes; Nutrient consumption; Digestibility; Bolivian sorghum.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Comportamento de pH (a) e de carboidratos solúveis em água (CHOs) (b) das silagens de sorgo em função das doses de blend enzimático (BENZ)..... 31
- Figura 2. Teores de fibra em detergente neutro (FDN) (a), fibra em detergente ácido (FDA) (b), Hemicelulose (c), celulose (d), lignina (e) e fibra em detergente neutro corrigido pra cinzas e proteínas (FDNcp) (f) das silagens de sorgo AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ)..... 32
- Figura 3. Fração solúvel “a” (a), fração potencialmente digestível “b” (b), taxa de degradação da fração “b” (c), DP, Degradabilidade potencial (d), DE 8%/h, Degradabilidade efetiva a 8%/h (e), das silagens de sorgo AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ)..... 34
- Figura 4. Degradação potencial da matéria seca (MS) de silagens de AGRI 002E em função dos tempos para as doses crescentes de blend enzimático (BENZ)..... 35
- Figura 5. Resíduo da degradação da fibra em detergente neutro (FDN) de silagens de AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ)..... 36

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1.	Atributos químicos do solo da área experimental.....	25
Tabela 2.	Composição e níveis de garantia do Allzyme-SSF™.....	26
Tabela 3.	Composição química e populações microbianas do sorgo AGRI 002E antes da ensilagem.....	29
Tabela 4.	Perfil fermentativo e populações microbianas de silagens de sorgo biomassa AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ).....	30
Tabela 5.	Composição química (g/kg MS) de silagens de sorgo AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ).....	31
Tabela 6.	Parâmetros médios da degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria seca de silagens de sorgo em função das doses crescentes de BENZ.....	33
Tabela 7.	Parâmetros médios da degradabilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro de silagens de sorgo em função das doses de BENZ.....	35

Capítulo II

Tabela 1.	Atributos químicos do solo da área experimental.....	50
Tabela 2.	Caracterização da composição química da ração completa, do sorgo forrageiro Volumax e dos ingredientes antes da ensilagem.....	52
Tabela 3.	Proporção dos ingredientes, composição química das dietas experimentais e caracterização microbiológica das silagens.....	53
Tabela 4.	Consumo de nutrientes de cordeiros alimentados com silagens de ração em mistura total à base de sorgo forrageiro, com diferentes métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas exógenas.....	56
Tabela 5.	Digestibilidade aparente total dos nutrientes em silagens de ração em mistura total à base de sorgo forrageiro com diferentes métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas.....	57
Tabela 6.	Desempenho de ovinos alimentados com silagem de ração em mistura total à base de sorgo forrageiro, em diferentes métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas exógenas.....	57

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	16
REFERÊNCIAS	19
CAPITULO I - ADIÇÃO DE BLEND ENZIMÁTICO E SEUS EFEITOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS E VALOR NUTRITIVO EM SILAGEM DE SORGO BIOMASSA	22
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1. Local do experimento e manejo do sorgo biomassa AGRI 002E.....	24
2.2. Colheita, ensilagem e delineamento experimental.....	25
2.3. Perfil fermentativo e populações microbianas.....	26
2.4. Análises químicas.....	27
2.5. Degradabilidade <i>in vitro</i>	27
2.6. Análises estatísticas.....	29
3. RESULTADOS	29
3.1. Perfil fermentativo e populações microbianas.....	30
3.2. Composição química.....	31
3.3. Degradabilidade <i>in vitro</i>	33
4. DISCUSSÃO.....	36
4.1. Perfil fermentativo.....	36
4.2. Populações microbianas.....	37
4.3. Composição química das silagens.....	38
4.4. Degradabilidade <i>in vitro</i>	39
5. CONCLUSÕES.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	40
CAPITULO - 2 EFEITO DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS SOBRE O CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS COMPLETAS	47
1. INTRODUÇÃO.....	48
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
2.1. Local do experimento e condições climáticas.....	50
2.2. Semeadura, colheita e ensilagem.....	50
2.3. Delineamento estatístico e dietas.....	51
2.4. Uso e manejo dos animais.....	53
2.5. Análises químicas, consumo, digestibilidade e desempenho animal.....	54
2.6. Caracterização das silagens.....	55
2.7. Análises estatísticas.....	56
3. RESULTADOS.....	56
3.1. Consumo de nutrientes.....	56
3.2. Digestibilidade aparente total.....	57
3.3. Desempenho animal.....	57
4. DISCUSSÃO.....	58

5. CONCLUSÕES.....	61
6. REFERÊNCIAS.....	61
CONCLUSÕES GERAIS.....	67

INTRODUÇÃO GERAL

As condições edafoclimáticas presentes em grande parte do Brasil são favoráveis ao cultivo de plantas forrageiras, entretanto, no período seco do ano, a sazonalidade da produção de forragens resulta na redução quantitativa e qualitativa da oferta de forragem, elevando os custos de produção e a necessidade de buscar por alternativas suplementares (Zougmore et al., 2016), para manutenção dos índices produtivos dos animais.

Uma das principais técnicas e alternativas para armazenamento e conservação de alimentos no Brasil, é a ensilagem, cuja técnica se baseia na fermentação dos carboidratos solúveis em água presentes nas plantas a ácidos orgânicos (principalmente, ácido lático), pelas bactérias epifíticas ou inoculadas (Weinberg e Muck, 1996). A combinação de anaerobiose e pH reduzido, ocasionado pela vedação e acúmulo dos ácidos orgânicos, propicia um ambiente inapropriado para o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, o que confere estabilidade ao material ensilado (McDonald et al., 1991; Phalow et al., 2003).

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), assim como o milho (*Zea mays* L.), é uma forrageira que se destaca em relação às outras culturas, por apresentar boas características para a ensilagem (Pereira et al., 2008; Silva, 2014). Em regiões semi-áridas ou tropicais onde a distribuição de chuvas é inadequada, a cultura do sorgo assume papel importante na produção de silagem, devido ao seu alto rendimento, tolerância ao estresse hídrico, reduzida necessidade de nutrientes e melhor adaptação em solos de baixa fertilidade. Além disso, o sorgo tem alto valor nutricional, baixa capacidade de tamponamento, alto teor de carboidratos solúveis em água e concentração adequada de matéria seca (MS) (Perazzo et al., 2017).

O híbrido de sorgo biomassa AGRI 002E, também denominado de sorgo gigante boliviano, é considerado como sorgo forrageiro com alto potencial produtivo de matéria seca e tem despertado interesse dos produtores como alternativa para produção de biomassa na alimentação animal, por apresentar características agrônômicas, como porte alto (3,5-4m), elevado perfilhamento e fotossensibilidade, o que promove alteração no seu ciclo de cultivo, levando a uma baixa produção de grãos, devido ao atraso do florescimento sob condições de maiores horas-luz (Caraffa, et al., 2017; Fernandes et al., 2009).

Outra tecnologia que vem sendo difundida no Brasil é o armazenamento de volumoso misturado ao concentrado, via ensilagem de ração em mistura total (TMR), em níveis ideais, de acordo com a espécie e as categorias de produção dos animais.

A produção de silagem como TMR não é recente, e países da Ásia e da Europa, como Japão (Wang e Nishino, 2008; Miyaji e Nonakat, 2018), Irã (Abdollahzadeh et al., 2010), Israel (Weinberg et al., 2011), Finlândia (Seppala et al., 2012) e China (Hu et al., 2015), tem investido nessa tecnologia com o objetivo de reaproveitar resíduos úmidos. No entanto, no Brasil, os estudos envolvendo silagem de TMR são recentes. Essa modalidade de ensilagem possibilita o uso de coprodutos, evitando que se tornem poluentes ambientais. Bem como, a oferta de uma dieta balanceada e homogênea ao longo do ano, economia com mão de obra durante o preparo, viabilização do transporte, e melhoria da estabilidade aeróbia e da digestibilidade do alimento (Nishino et al., 2010).

No Brasil, a utilização de silagem de TMR é uma tecnologia que pode ajudar os produtores que sofrem com escassez de mão de obra qualificada, área de produção limitada e maquinários com baixa tecnologia para a mistura homogênea e diária da ração (Chen et al., 2015; Bueno et al., 2020). Além disso, a ensilagem de TMR melhora o processo de conservação dos ingredientes das rações. No entanto, é necessário a avaliação e o aperfeiçoamento dessa tecnologia (Chen et al., 2015).

Diversos métodos físicos, químicos e biológicos foram desenvolvidos com objetivo de melhorar o aproveitamento dos alimentos pelos animais. Dentre estes, a aplicação de tratamentos biológicos aos alimentos destinados à alimentação animal tem sido preferida, devido à segurança alimentar (Sujani e Seresinhe, 2015), destacando-se o uso de enzimas exógenas, cujos estudos não são recentes. No entanto, a inconsistência dos resultados obtidos, o menor conhecimento sobre o modo de ação e o alto custo de produção das enzimas dificultaram o desenvolvimento desse método, bem como seu uso (McCarthy et al., 2013).

Contudo, recentemente as pesquisas têm demonstrado efeitos positivos da suplementação de dietas para ruminantes com enzimas exógenas, em especial as enzimas fibrolíticas (Arriola et al., 2017; Adesogan et al., 2019; Tirado-González et al., 2018). Em estudo de meta-análise foi reportado efeito positivo de enzimas fibrolíticas como tecnologia biológica para aumento da utilização de fibras em forrageiras, bem como tendências na melhoria da concentração de proteína do leite quando esta foi aplicada à TMR em vez de ser adicionada no concentrado ou volumoso (Adesogan et al., 2019).

A suplementação com enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) pode melhorar a fermentação ruminal e aumentar a degradabilidade da parede celular da forragem, proporcionando redução nos custos com alimentação e mantendo o desempenho produtivo dos ruminantes (Tirado-González et al., 2018).

As EFE podem ser de origem fúngica ou bacteriana (Mendoza et al., 2014) e existem diversos métodos para sua aplicação, com o pré-tratamento da ração, por um determinado período de tempo antes da alimentação (produção de silagem ou forragem verde), e sem uso de tratamento antecipado, sendo apenas adicionada na ração, no momento da alimentação dos animais, como suplemento ou infundido diretamente via rúmen (Sujani e Seresinhe, 2015), em condições experimentais.

Tirado-González et al. (2018) destacaram que as enzimas fibrolíticas exógenas podem produzir maiores respostas na produção animal, quando aplicadas a dietas com alto teor de forragem. A aplicação de enzimas à forragem minutos antes do fornecimento aos animais possibilita maior flexibilidade no manejo da alimentação, além de reduzir qualquer probabilidade de interação negativa que o processo de conservação possa proporcionar à eficiência do aditivo enzimático (Beauchemin et al., 2003).

Avaliando métodos meta-analíticos para estimar os efeitos da adição de enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) em dietas de vacas leiteiras, Arriola et al. (2017) observaram melhorias nas digestibilidades da MS e da fibra em detergente neutro (FDN) e aumento na produção de leite, em função das distintas enzimas fibrolíticas utilizadas e respectivas atividades enzimáticas. Gandra et al. (2017) avaliaram a adição de enzima fibrolítica em dietas de novilhas da raça Jersey, alimentadas com silagem de milho e, ou, cana-de-açúcar, e verificaram aumento da digestibilidade da MS com a utilização da enzima, sem, contudo, afetar o consumo de matéria seca.

A variação observada nos estudos que avaliaram o uso de EFE na alimentação animal pode ser explicada pelos diferentes tipos de enzimas, especificidade, taxa de aplicação e composição da dieta (Ribeiro et al., 2016; Li et., 2018; Terry et al., 2019). Portanto, estudos sobre a avaliação de EFE devem ser realizados para o melhor entendimento da atividade específica das enzimas, a determinação de métodos de suplementação mais eficientes e dosagens enzimáticas ideais, de forma a melhorar a eficiência da utilização do alimento e o desempenho animal.

Estudos envolvendo a aplicação de enzimas exógenas sobre o perfil fermentativo e a qualidade da silagem de sorgo biomassa AGRI 002E, com o intuito de diminuir os componentes fibrosos e melhorar a digestibilidade, ainda são inexistentes. Portanto, existe a necessidade de tais investigações, o que pode resultar em recomendações práticas do melhor uso desse tipo de aditivo, visando produzir silagem de qualidade com volumoso com alto teor de fibra.

Além disso, estudos sobre a determinação do melhor momento de aplicação de enzimas exógenas na ensilagem de sorgo em forma de TMR, e seus efeitos sobre o consumo,

digestibilidade e desempenho de cordeiros, também são escassos, indicando a necessidade de mais estudos nessa área.

Assim sendo, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos da adição de doses crescentes de BENZ sobre as características fermentativas e valor nutritivo de silagens de sorgo biomassa AGRI 002E e o efeito de dois métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas na silagem de ração em mistura total, sobre eficiência de utilização de nutrientes em ovinos.

REFERÊNCIAS

- Abdollahzadeh, F.; Pirmohammad, R.; Fatehi, F.; Bernousi, I. The effect of feeding ensiled mixed tomato and apple pomace on performance of Holstein dairy cows. Slovak. **Journal of Animal Science**, v.1, p.31-35, 2010.
- Adesogan, A. T.; Arriola, K. G.; Oyebade, A.; Paula, E. M.; Pech-Cervantes, A. A.; Romero, J. J.; Ferrarett, L. F.; VYAS, D. Symposium review: technologies for improving fiber utilization. **Journal of Dairy Science**. **102**(6): 5726–5755. 2019.
- Arriola, K. G.; Oliveira, A. S.; Ma Z. X.; Lean, I.J.; Giurcanu, M. C.; Adesogan, A. T. A meta-analysis on the effect of dietary application of exogenous fibrolytic enzymes on the performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.6, p. 4513–4527, 2017.
- Beauchemin, K. A.; Colombatto D.; Morgavi, D. P.; Yang, W. Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal Animal Science**. 81:37–47. 2003.
- Bueno, A. V. I.; Lazzari, G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P. Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. **Agronomy** 10, 1–18. 2020.
- Caraffa, M.; Riffel, C. T.; Carneiro, E. A.; Zawacki, M. E.; Witczak, G. P. Ensaio Estadual de avaliação de genótipos de sorgo silageiro-sacarino, Três de Maio, RS, na safra 2016/17. **Anais... 45º Reunião Técnica Anual da Pesquisa do sorgo**. p.182-185. 2017.
- Chen, L.; Guo, G.; Yu, C.; Zhang, J.; Shimojo, M.; Shao, T. The effects of replacement of whole-plant corn with oat and common vetch on the fermentation quality, chemical composition and aerobic stability of total mixed ration silage in Tibet. **Animal Science Journal**, v. 86, p. 69–76, 2015.
- Fernandes, F. E. P.; Garcia, R.; Pires, A. J. V.; Pereira, O. G.; Carvalho, G. G. P.; Olivindo, C. S. 2009. Forage sorghum silage with added urea in two storage periods. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 38:2111-2115.
- Gandra, J. R.; Miranda, G. A.; Goes, R. H. T.; Takiya, C. S.; Del Valle, T. A.; Oliveira, E. R.; Freitas, J. J. E.; Gandra, E. R. S.; Arakia, H. M. C.; Santos, A. L. A. V. Fibrolytic enzyme supplementation through ruminal bolus on eating silage or sugarcane silage-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, Brasil, v.231, p. 29–37, 2017.

- Hu, X.; Hao, W.; Wang, H.; Ning, T.; Zheng, M.; Xu, C. Fermentation Characteristics and Lactic Acid Bacteria Succession of Total Mixed Ration Silages Formulated with Peach Pomace. **Asian-Australasian Journal Animal Science**. 28:502-510. 2015.
- Li, J.; Yuan, X.; Dong, Z.; Mugabe, W.; Shao, T. The effects of fibrolytic enzymes, cellulolytic fungi and bacteria on the fermentation characteristics, structural carbohydrates degradation, and enzymatic conversion yields of Pennisetum sinense silage. **Bioresource Technology**, v.264, p.123–130, 2018.
- McCarthy, M. M.; Engstrom, M. A.; Azem, E.; Gressley, T. F. The effect of an exogenous amylase on performance and total-tract digestibility in lactating dairy cows fed a high-byproduct diet. **Journal Dairy Science**. 96:3075–3084. 2013.
- McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ed . Marlow: Chalcombe Publications,1991. 340p.
- Mendoza, G. D.; Loera-Corral O, Plata-Pérez, F. X, Hernández-García P. A.; Ramírez-Mella, M. 2014. Considerations on the use of exogenous fibrolytic enzymes to improve forage utilization. **Science World Journal**.
- Miyaji, M.; Nonakat, K. Effects of altering total mixed ration conservation method when feeding dry-rolled versus steam-flaked hulled rice on lactation and digestion in dairy cows. **Journal Dairy Science**. v.101, p.1–10, 2018.
- Nishino, N.; Harada, H.; Sakaguchi, E.; Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers' grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 83 (2010), pp. 557-563.
- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F.; Oude Elferink, S. J. W. H.; Spoelstra, S. F Microbiology of ensiling. In: Buxton, D. R.; Muck, R. E.; Harrison, J. H. (Eds.) **Silage science and technology**. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, p.31-94, 2003.
- Perazzo, A. F.; Carvalho, G. P. G.; Santos, E. M.; Bezerra, F. C. H.; Silva, T. C.; Pereira, G. A.; Ramos, R. C. S.; Rodrigues, J. A. Agronomic evaluation of sorghum hybrids for silage production cultivated in semiarid conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1088, 2017.
- Pereira, R. G. A.; Townsend, C. R.; Costa, N. D. L.; Magalhães, J. A. Processos de ensilagem e plantas a ensilar. **Embrapa Rondônia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.
- Ribeiro, G. O.; Swift, M. L.; McAllister, T. A. Effect of diastatic power and processing index on the feed value of barley grain for finishing feedlot cattle. **Journal Animal Science**. 2016 Aug;94(8):3370-3381.
- Seppälä, A.; Heikkilä, T.; Mäki, M.; Miettinen, H.; Rinne, M. Controlling aerobic stability of grass silage-based total mixed rations. **Animal Feed Science and Technology** v. 179, p. 54-60, 2012.
- Silva, T. C. D. Silagem de estilosantes e cana-de-açúcar in natura na alimentação de ruminantes e perfil fermentativo e estabilidade aeróbia de grãos úmidos de milho tratados com aditivo químico. 2014. 104f. **Tese (Doutorado) - Viçosa, MG**, 2014.

- Sujani, S.; Seresinhe, R. T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. **Asian Journal of Animal Science**, Egito, v.93, n.3, p. 85–99, 2015.
- Terry, S. A.; Badhan, A.; Wang, Y.; Chaves, A. V.; McAllister, T. A Fibre digestion by rumen microbiota — a review of recent metagenomic and metatranscriptomic studies. **Canadian of Journal Animal Science**. **99**(4): 678–692. 2019.
- Tirado-Gonzalez, D. N.; Miranda-Romero, L. A.; Ruíz-Flores, A.; Medina-Cuéllar, S. E.; Ramírez-Valverde, R.; Tirado-Estrada, G. Meta-analysis: effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. **Journal of Applied Animal Reserach**, 46:1, 771-783. 2018.
- Wang, F., Nishino, N. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. **Journal of Science Food Agriculture**. v.88, p.133–140, 2008.
- Weinberg, Z. G.; Chen, Y.; Miron, D. D.; Raviv, Y.; Nahim, E.; Bloch, A.; Yosef, A.; Nikbahat, M.; Miron, J. Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film – A commercial scale experiment. **Animal Feed Science and Technology** v.164, p. 125-129, 2011.
- Weinberg, Z. G.; Muck, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v.19, p.53-68, 1996.
- Venturini, T. Caracterização da silagem do sorgo forrageiro agri 002e e utilização na alimentação de bovinos. 2019. 148 f. **Tese** (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, 2019. Cap. 3.
- Zougmore, R.; Partey, S.; Ouédraogo, M., Omitoyin, B. Thomas, T.; Ayantunde, A.; ERICKSEN, P., SAID, M.; JALLOH, A. Toward climate-smart agriculture in West Africa: a review of climate change impacts, adaptation strategies and policy developments for the livestock, fishery and crop production sectors. **Agriculture and Food Security**. 5:26. 2016.

CAPÍTULO I - ADIÇÃO DE BLEND ENZIMÁTICO E SEUS EFEITOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS E VALOR NUTRITIVO DE SILAGEM DE SORGO BIOMASSA

Resumo

Foram avaliadas as características fermentativas, as populações microbianas, a composição química e a degradabilidade *in vitro* de silagens de sorgo biomassa AGRI 002E em função de doses crescentes do *blend* enzimático (BENZ): 0; 3; 6 e 9 g/kg de matéria seca (MS). Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições. As variáveis pH e carboidratos solúveis em água (CHOs) ajustaram-se a modelos lineares decrescente ($P = 0,010$) e crescente ($P = 0,001$), respectivamente. A concentração de $N-NH_3/NT$ não se ajustou a nenhum modelo de equação ($P > 0,05$), cuja concentração média foi 7,74 g/kg. Os teores de FDN, FDA, hemicelulose, celulose, lignina e FDN_{cp} ajustaram-se a modelos lineares ($P < 0,05$) em função das doses de BENZ. Não houve efeito ($P > 0,05$) das doses de BENZ sobre a população de bactérias do ácido lático (BAL), fungos filamentosos (FUN) e leveduras (LEV), com valores médios de 8,26; 2,24 e 3,59 log ufc/g, respectivamente. Os parâmetros da degradabilidade da MS, a fração “a” (fração solúvel) e a degradabilidade efetiva a 8%/h ajustaram-se a modelos quadráticos ($P = 0,03$), a fração “b” e a degradabilidade potencial ajustaram-se a modelos lineares crescentes ($P < 0,05$), enquanto que a fração “c” e a degradabilidade efetiva a 5%/h, decresceram linearmente ($P < 0,05$) com as doses de BENZ. Não houve efeito ($P > 0,05$) das doses de BENZ sobre as variáveis da degradabilidade da FDN, fração “b” (potencialmente degradável) e “I” (indigestível) das silagens. O uso de BENZ altera o perfil fermentativo, resulta em menores valores da fração fibrosa, maiores teores de CHOs da fração potencialmente digestível e da degradabilidade potencial, e não apresenta efeito sobre a degradabilidade da FDN. Conclui-se, que o BENZ apresenta potencial de uso como aditivo para ensilagem, recomendando-se a adição de 9 g/kg MS de BENZ na ensilagem de sorgo biomassa AGRI 002E, pois melhora as características fermentativas e o valor nutritivo da silagem.

PALAVRAS-CHAVE

AGRI 002E; Complexo enzimático; Degradabilidade; Enzimas fibrolíticas; Sorgo gigante boliviano.

1. INTRODUÇÃO

A ensilagem é uma técnica de conservação de alimentos que se baseia na fermentação de carboidratos solúveis em água (CHOs) presentes nas plantas (Weinberg & Muck, 1996; Kung Jr. et al., 2018), sendo a principal fonte de volumoso usada em dietas de bovinos de leite ou corte em confinamentos (Silva et al., 2019; Carvalho et al., 2020).

Dentre as plantas forrageiras utilizadas para a confecção de silagem, o sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) se destaca por ser de alto valor nutritivo, ter alta produtividade de MS e possuir alto teor de CHOs, os quais são essenciais para que ocorra adequada fermentação, características essas que o assemelham ao milho, principal forrageira utilizada na confecção de silagem. Além disso, o sorgo possui a vantagem de apresentar maior tolerância ao déficit hídrico e maior amplitude de semeadura em relação ao milho (Machado et al., 2012).

No Brasil, os cultivares de sorgo forrageiro e granífero são os mais difundidos e de maior interesse para a produção de silagem, porém, trabalhos recentes têm investigado a viabilidade do sorgo biomassa para a produção de silagem e seu uso na alimentação animal (Venturini, 2019; Ramos et al., 2021; Queiroz et al., 2021). Dentre os híbridos para produção de biomassa, o sorgo AGRI 002E, também denominado de sorgo gigante boliviano, apresenta elevada produtividade, porte alto e alta capacidade de perfilhamento (Caraffa et al., 2017). Entretanto, esse tipo de sorgo apresenta elevado teor da fração fibrosa (> 700 g FDN/kg MS), contudo, essa limitação pode ser superada através de estratégias que visam reduzir esta fração, melhorando assim o processo fermentativo e o valor nutritivo dessas silagens (Venturini, 2019).

Várias técnicas podem ser utilizadas visando aumentar a eficiência do processo de ensilagem, como o uso de aditivos. Dentre os aditivos utilizados para melhorar o processo fermentativo de silagens de gramíneas forrageiras, se destaca o uso de enzimas exógenas fibrolíticas, amilolíticas ou proteolíticas. O uso dessas enzimas visa otimizar a degradabilidade ruminal das fibras, amido e proteínas, bem como a digestibilidade dos alimentos que são utilizados na confecção de dietas para ruminantes (Krause et al., 2003; Adesogan et al., 2019).

A aplicação de enzimas exógenas fibrolíticas pode proporcionar a redução dos conteúdos de fibra insolúvel em detergente neutro e de fibra insolúvel em detergente ácido, aumentar a degradabilidade da parede celular da forragem e promover a melhoria da fermentação ruminal, tendo em vista a possibilidade de aumento da ingestão e da eficiência da digestão de matéria seca da forragem, quando oferecida aos ruminantes (Cysneiros et al., 2006; Tirado-González et al., 2018).

No processo de ensilagem, a aplicação das enzimas exógenas pode potencializar a hidrólise enzimática da fração fibrosa da forragem, causando sua redução e aumento da disponibilidade de CHOs, devido a solubilização dos constituintes da parede celular, e, por consequência, melhorar a eficiência do processo fermentativo, fornecendo substratos (açúcares simples), como fonte de nutrientes para as bactérias fermentadoras, principalmente as bactérias produtoras de ácido lático (McDonald et al., 1991; Feng et al., 1996; Hristov et al., 2000; Beauchemin et al., 2003; Muck et al., 2018).

Os resultados da aplicação de enzimas fibrolíticas são reportados em vários estudos (Romero et al., 2015; Ribeiro et al., 2016; Li et al., 2018; Lemos et al., 2020; Kawepila et al., 2020; Capana et al., 2022). Contudo, alguns trabalhos apresentaram eficiência do tratamento enzimático, enquanto outros não. Os efeitos das enzimas variam e são influenciados por vários fatores, incluindo tipo de enzima, especificidade enzima-substrato, padronização das preparações enzimáticas, método e taxa de aplicação, tipo de forragem e composição da dieta, tornando difícil a avaliação e comparação do efeito das enzimas sobre a fermentação da silagem e o desempenho animal (Beauchemin et al., 2004).

Portanto, considerando-se a escassez de estudos envolvendo a avaliação do perfil fermentativo e a ação das enzimas exógenas sobre a fração fibrosa do sorgo biomassa, propõe-se o presente estudo. A nossa hipótese é que a adição do BENZ em silagens de sorgo biomassa AGRI 002E proporciona melhoria nas características fermentativas e em seu valor nutritivo, devido à redução da fração fibrosa e aumento da degradabilidade ruminal da MS e da FDN.

Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da adição de doses crescentes de BENZ sobre as características fermentativas e o valor nutritivo de silagens de sorgo biomassa AGRI 002E.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento e manejo do sorgo biomassa AGRI 002E

O experimento foi realizado em área da UEPE-Forragicultura e no Laboratório de Forragicultura e Microbiologia da Silagem do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil, com altitude média de 657 m, latitude Sul 20°45' e longitude Oeste 42° 51'. O clima é classificado como subtropical do tipo Cwa (Köppen, 1918).

O sorgo híbrido AGRI 002E (Biomassa; Biomatrix®, Brasil) foi cultivado em uma área de 500 m², em solo classificado como argiloso (Santos et al., 2013). A semeadura foi realizada dia 06 de novembro de 2019, utilizando-se uma semeadora mecânica de arraste com

3 linhas (Knapik®, Porto União-SC, Brasil) e engate de 3 pontos do trator (John deere® 5600 4x4, Cidade, País), com uma taxa de semeadura de 15 sementes por metro linear e espaçamento de 0,7 m entre linhas.

A correção do solo foi realizada de acordo com os resultados da análise de solo (Tabela 1), seguindo recomendações de adubação do Manual de cultivo agrícola para o estado de Minas Gerais (Ribeiro et al., 1999). No momento do plantio, foram aplicadas doses de 32 kg/ha de N, 80 kg/ha de P₂O₅ e 80 kg/ha de K₂O, utilizando-se o adubo comercial N-P-K (8-28-16) (Fertilizantes Heringer®, Manhuaçu-MG, Brasil). Após 43 dias da semeadura, foi realizada a adubação em cobertura com 100 kg/ha de N, usando ureia como fonte.

Tabela 1. Atributos químicos do solo da área experimental.

pH	P	K ⁺	Na	H ⁺ +Al ³⁺	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	V	MO
H ₂ O	----mg/dm ³ ----	-----cmol _c dm ³ -----								%	g/kg
5,6	2,63	110	0	4,29	0,1	2,5	0,9	3,7	3,78	46	-

pH, Potencial hidrogeniônico, P, Fósforo; K⁺, Potássio; Na⁺, Sódio; H⁺+Al³⁺, Acidez potencial; Al³⁺, Alumínio; Ca²⁺, Cálcio; Mg²⁺, Magnésio; V%, Saturação de bases; CTC, Capacidade de troca catiônica; MO, Matéria orgânica; SB, Soma das bases.

2.2. Colheita, ensilagem e delineamento experimental

O material foi colhido manualmente após 152 dias de cultivo, com teor médio de MS de 242,1 ± 0,31 g/kg e em seguida foi processado em máquina forrageira estacionária (JF-60, JF-Máquinas®, Itapira, -SP, Brasil) acoplada em tomada de potência do trator (Valtra, Valmet 785®, Mogi das Cruzes-SP, Brasil). Para aplicação de BENZ (Tabela 2), o mesmo foi diluído em 150 mL de água destilada e aplicado manualmente, com o uso de borrifadores, sobre pilhas individuais de 10 kg do material *in natura* (total de 16 pilhas), simultaneamente em todos os tratamentos, por ordem de repetição. O mesmo volume de água foi aplicado ao tratamento controle, BENZ-0.

Foi usado o aditivo de ação multi-enzimática Allzyme-SSF™ (Alltech®, Brasil), obtido através de fermentação realizada por *Aspergillus niger*. A composição e os níveis de garantia do produto estão disponíveis na Tabela 2.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais. Os tratamentos foram constituídos por quatro doses de BENZ: 0 (controle, não tratado, BENZ-0); 3 (BENZ-3); 6 (BENZ-6) e 9 (BENZ-9) g/kg MS.

Tabela 2. Composição e níveis de garantia do Allzyme-SSF™.

Pectinase	Mín.: 4000 u*1/g
Protease	Mín.: 700 u*2/g
Fitase	Mín.: 300 u*3/g
Betaglucanase	Mín.: 200 u*4/g
Xilanase	Mín.: 100 u*5/g
Celulase	Mín.: 40 u*6/g
Amilase	Mín.: 30 u*7/g

Fonte: Alltech®, Brasil.

Posteriormente, o material foi ensilado em baldes plásticos de 7 L (Jaguar Embalagens®, Jaguariúna-SP, Brasil), previamente pesados (peso vazio), e compactado manualmente, com densidade de $\cong 550 \text{ kg/m}^3$ de MN. Os baldes foram vedados com filme plástico adesivo e armazenados em galpão à temperatura ambiente até o momento da abertura aos 120 dias de fermentação.

2.3. Perfil fermentativo e populações microbianas

Amostras de 25 g da planta *in natura* e das silagens após abertura, foram homogeneizadas em 225 mL de solução de Ringer's solution estéril (Oxoid™, Hampshire, Inglaterra) em liquidificador industrial (1 min). O extrato aquoso foi filtrado em dupla camada de gaze estéril de algodão e dividido em duas alíquotas: Uma alíquota foi usada para medição do pH, utilizando-se potenciômetro digital (W38/Tecnal®, São Paulo, SP, Brasil). Posteriormente, 20 mL do extrato aquoso foi filtrado e acidificado com H₂SO₄ 1:1 (armazenados a -20 °C) para análises das concentrações de carboidratos solúveis em água (CHOs), pelo método colorimétrico (Nelson, 1944) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃), pelo método fenol-hipoclorito (Okuda et al., 1965).

A segunda alíquota do extrato aquoso não acidificada foi utilizada para quantificação das populações microbianas, em diluições seriadas (10^1 a 10^7). Em seguida, foi realizado o plaqueamento pelo método “*pour-plate*”, em meios de cultura em placas de *Petri* estéreis (Kung Jr. et al., 2003). Foi utilizado MRS ágar (De Man, Rogosa & Sharpe, Merck®, Darmstadt, Alemanha) para o cultivo de bactérias ácido lácticas (BAL) (37 °C/48 h), VRB ágar (Violet Red Bile Agar, Oxoid™, Hampshire, Inglaterra) para o cultivo de enterobactérias (ENT) (37 °C/24 h) e DRBC ágar (Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol, Oxoid™, Hampshire, Inglaterra) para cultivo de leveduras (LEV) (25 °C/72 h) e fungos filamentosos (FUN) (25 °C/120 h). As placas

contendo entre 25 a 250 ufc, foram consideradas para a contagem de ufc (American Public Health Association, 2015).

2.4. Análises químicas

Após homogeneização da silagem, foram coletadas amostras de 300 g de cada balde para realização de secagem parcial, em estufa com circulação forçada de ar (55 °C/72 h), e moídas em moinho de facas tipo “Willey” (RTE-650/1, Tecnal®, Piracicaba-SP, Brasil), com peneira de crivos de 1 mm, para análises da composição química.

As amostras moídas foram utilizadas para a determinação dos teores de MS (método 934,01), PB (método 984,13), FDA (método 973,18), matéria mineral (MM) (método 942,05) e lignina (LIG) (método 973,18), conforme AOAC (1990). Nessas amostras, também foram determinados os teores de FDN, FDN_{cp}, com o uso de α -amilase termoestável sem o uso de sulfito de sódio (Mertens, 2002), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) (Licitra et al., 1996), hemicelulose (HEM), obtido por diferença entre os teores de FDN e FDA, e celulose (CEL), obtida pela diferença entre FDA e LIG.

2.5. Degradabilidade *in vitro*

Na determinação da degradabilidade *in vitro* da MS e da FDN, foi utilizada a metodologia da ANKOM® (Ankom Technology, 2010), adaptada ao rúmen artificial, utilizando a Incubadora TE-150 (TECNAL®, São Paulo-SP, Brasil). Foram pesados 0,5 g de amostra seca em sacos de filtro (F-57 ANKOM®, Macedon-NY, EUA), que foram vedados utilizando-se uma seladora. O inóculo ruminal foi obtido através da mistura do líquido ruminal de três vacas Nelore (peso corporal médio 450 ± 20 kg) fistuladas no rúmen. Os animais foram alimentados com uma dieta a base de silagem de sorgo AGRI 002E e concentrado (relação volumoso:concentrado de 70:30, base MS) e 140 g PB/kg MS.

O concentrado foi composto por fubá de milho, farelo de soja, núcleo mineral e ureia. Os animais foram adaptados à dieta padrão por 14 dias, antes da coleta da digesta ruminal (Machado et al., 2016). Os procedimentos para o uso de animais seguiram as diretrizes e também foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUAP) da UFV (Protocolo CEUAP/UFV: 023/2021).

Para a degradabilidade *in vitro*, foi preparada em laboratório a solução tampão de McDougall. As soluções tampão A e B foram armazenadas a 39 °C, um dia antes da incubação, e posteriormente ajustadas na proporção 1:5, com pH final de 6,8 (Marten e Barnes, 1980; Silva

e Queiroz, 2002). Aproximadamente 2000 mL de digesta ruminal (frações líquida e sólida), de cada animal, foram coletados em pontos aleatórios do ambiente ruminal, imediatamente antes do início de incubação na incubadora, sendo acondicionado em garrafa térmica pré-aquecida à 39 °C. Posteriormente, o material coletado foi processado em liquidificador industrial (Thunderbird, Blaine-WA, USA), durante 30 s, com infusão contínua de CO₂ para homogeneizar a fase líquida e sólida da digesta, em sala climatizada (39 °C), e ajustar o pH final da solução. Ainda, na sala climatizada, o material homogeneizado foi filtrado, em quatro camadas de gaze, para frascos erlenmeyer de 2000 mL.

As quatro repetições de cada um dos quatro tratamentos de BENZ (0; 3; 6 e 9, g/kg MS) foram utilizadas para preparar uma amostra composta para cada tratamento, totalizando quatro amostras compostas. As amostras foram inseridas em um recipiente de vidro da incubadora, perfazendo o total de nove recipientes. Cada recipiente recebeu dez filter bags, inseridos de acordo com o tempo correspondente, sendo oito deles com amostras e dois vazios, representando o “branco”, considerando-se que as amostras do tempo 0 não foram incubadas. Em seguida, 400 mL de inóculo ruminal, de cada tratamento, e 1600 mL de solução tampão (A/B), foram adicionados em cada recipiente, que foi purificado com CO₂ por 30 s, tampado e inserido na incubadora, a 39 °C. Os tempos de incubação *in vitro* avaliados em cada rodada experimental, foram: 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 h. Foram realizadas três rodadas de incubação, sendo essas consideradas as três repetições para os tratamentos.

Após 120 horas de incubação, os filter bags foram retirados da incubadora, e juntamente com as amostras do tempo zero, foram imediatamente lavados com água destilada corrente, para posteriores análises químicas de MS e FDN. Após a lavagem, todos os filter bags foram secos a 55 °C, por 72 h, em estufa com ventilação forçada de ar. Em seguida, os filter bags foram colocados em estufa a 105 °C, por 16 horas, e, em sequência, foram pesados, obtendo-se o resíduo da MS aparentemente não degradada.

As estimativas de degradação das frações da MS e FDN foram obtidas pela diferença de peso entre os filter bags, antes e após a incubação no rúmen artificial, seguido da extração dos resíduos solúveis em detergente neutro, respectivamente.

Para estimativa dos parâmetros cinéticos referentes à degradabilidade ruminal da MS foi utilizado o modelo de McDonald (1981): $p = a + b(1 - e^{-c \times (t-L)})$, em que “p”, é degradabilidade potencial; “a”, fração solúvel em água; “b”, fração potencialmente degradável; “c”, taxa de degradação da fração “b” (h⁻¹); “t”, tempo de incubação (h) e “L”, tempo de colonização.

Para estimativa dos parâmetros cinéticos referentes à degradabilidade ruminal da FDN, foi utilizado o modelo logístico descrito por Van Milgen et al. (1991): $R_t = B \times (1 + \lambda \times t) \times$

$\exp(-\lambda \cdot t) + I$, em que “Rt” é o resíduo não-degradado de FDN no tempo “t” (%); “B” é o resíduo potencialmente degradável (%); “I” é a fração indegradável (%); “λ” é a taxa fracional conjunta de latência e degradação (h^{-1}); e “t” é variável tempo (h).

A taxa de degradação (kd) da FDN foi calculada com base em λ, utilizando-se as propriedades da distribuição $\Gamma(2)$ (Ellis et al., 1994): $kd = 0,59635 \times \lambda$.

2.6. Análises estatísticas

Todas as variáveis foram submetidas ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos erros. Os dados de quantificação das populações microbianas foram transformados em unidade logarítmica na base dez (Log 10 ufc/g) antes da análise estatística.

Os dados foram analisados por meio de regressão com o auxílio do programa Statistical Analyses System - SAS® (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2010). Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = SQ_{Regressão}/SQ_{Tratamentos}$) e no comportamento do fenômeno em estudo. O modelo usado para analisar os efeitos individuais de cada tratamento foi:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Onde: Y_{ij} = variável resposta μ = média; t_i = efeito do tratamento (doses de BENZ); e_{ij} = erro aleatório residual.

3. RESULTADOS

A composição química e as populações microbianas do sorgo biomassa AGRI 002E, antes da ensilagem, é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Composição química e populações microbianas do sorgo AGRI 002E antes da ensilagem.

Item ^a	AGRI 002E
Produtividade MN (t/ha)	94,69
Produtividade MS (t/ha)	22,84
Matéria seca (g/kg MN)	241,21
Matéria mineral (g/kg MS)	45,01
Matéria orgânica (g/kg MS)	955,00

Proteína bruta (g/kg MS)	66,22
FDN (g/kg MS)	739,10
FDA (g/kg MS)	497,13
Lignina (g/kg MS)	115,06
FDNcp (g/kg MS)	716,64
Carboidratos solúveis em água (g/kg MS)	50,72
Populações microbianas (log UFC/g forragem)	
Enterobactérias	5,33
Bactérias ácido lácticas	5,54
Leveduras	6,64
Fungos filamentosos	2,96
pH	5,73

^aMN, matéria natural; MS, matéria seca; FDN, Fibra em detergente neutro; FDA, Fibra em detergente ácido; FDNcp, Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; UFC, unidades formadoras de colônia.

3.1. Perfil fermentativo e populações microbianas

O pH e o teor de carboidratos solúveis em água (CHOs) das silagens ajustaram-se a modelos lineares ($P = 0,010$) em função das doses de BENZ (Figura 1). A concentração de N-NH₃ não se ajustou a nenhum modelo ($P > 0,05$), com valor médio de $7,74 \pm 1,69$ g/kg NT (Tabela 4).

Não foi constatada a presença de enterobactérias nas silagens avaliadas. Na avaliação dos efeitos de BENZ sobre BAL, fungos filamentosos e leveduras, os dados não se ajustaram a nenhum modelo de regressão ($P > 0,05$), estimando-se valores médios de $8,26 \pm 0,17$; $2,24 \pm 0,65$; $3,59 \pm 0,85$ log ufc/g, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Perfil fermentativo e populações microbianas de silagens de sorgo biomassa AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ).

Item ^a	Doses de BENZ (g/kg MS) ^b				EPM ^d	P-valor ^e	
	0	3	6	9		L	Q
pH	3,52	3,47	3,44	3,39	0,015	0,010	0,118
CHOs (g/kg MS)	3,12	3,41	5,37	6,70	0,415	0,001	0,298
N-NH ₃ (g/kg NT)	7,79	8,56	8,69	5,91	0,355	0,060	0,371
BAL ^c	8,26	8,39	8,23	8,17	0,052	0,740	0,364
Fungos							
filamentosos ^c	2,31	2,07	2,39	2,21	0,136	0,560	0,602
Leveduras ^c	3,58	3,35	3,86	3,58	0,208	0,122	0,314

^aCHOs, Carboidratos solúveis em água; N-NH₃, Nitrogênio amoniacal; BAL, Bactérias do ácido láctico; ^bDoses de BENZ: 0; 3; 6; 9 g/kg inclusão com base na matéria seca (MS); ^dEPM, Erro padrão da média; ^c(Log ufc/g forragem) ^eP-Valor, Probabilidade de efeito das doses de BENZ, L: Linear, Q: Quadrático.

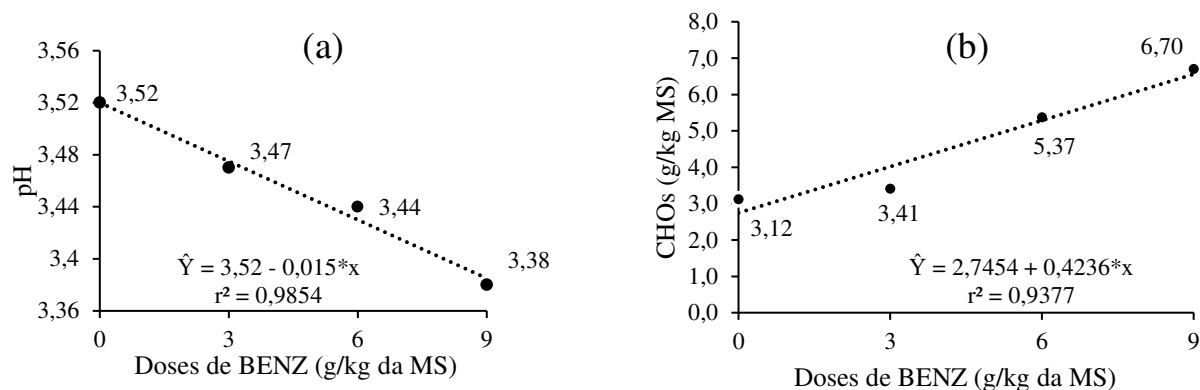


Figura 1. Comportamento de pH (a) e de carboidratos solúveis em água (CHOs) (b) das silagens de sorgo em função das doses do blend enzimático (BENZ).

3.2. Composição química

As concentrações de MS, PB, NIDN e NIDA das silagens não foram afetadas pelas doses de BENZ ($P > 0,05$) (Tabela 5).

Foi observado efeito de doses de BENZ sobre a MM ($P = 0,010$) cujos dados ajustaram-se ao modelo de regressão linear $\hat{Y} = 41,97 + 0,5183x$ ($r^2 = 0,5227$).

Tabela 5. Composição química (g/kg MS) de silagens de sorgo AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ).

Item ^a	Doses de BENZ (g/kg MS)				EPM ^b	P-valor ^c	
	0	3	6	9		L	Q
MS	271,36	275,95	256,84	295,86	5,759	0,669	0,823
MO	958,40	957,28	952,13	956,20	0,975	0,007	0,985
MM	41,58	42,73	47,87	45,06	1,086	0,010	0,855
PB	61,15	55,29	64,04	61,72	1,210	0,052	0,398
FDN	699,57	696,66	684,13	592,35	11,48	<0,001	<0,001
FDA	440,08	441,97	422,42	387,35	5,784	<0,001	<0,001
HEM	259,49	254,69	261,72	205,00	6,215	<0,001	0,001
CEL	326,50	321,26	312,64	283,11	5,717	<0,001	0,185
LIG	110,93	105,02	106,2	102,24	0,827	<0,001	<0,001
FDNcp	678,89	669,67	659,4	568,78	11,52	<0,001	<0,001
NIDN/NT	20,58	31,62	23,96	24,20	0,157	0,910	0,490
NIDA/NT	97,49	123,80	73,70	119,14	0,087	0,236	0,331

^aMS, Matéria seca; MM, Matéria mineral; PB, Proteína bruta; FDN, Fibra em detergente neutro, FDA, Fibra em detergente ácido; HEM, Hemicelulose; CEL, Celulose; LIG, Lignina; FDNcp, Fibra em detergente corrigido pra cinzas e proteína; NIDN/NT, Nitrogênio insolúvel em detergente neutro em função do N total; NIDA/NT, Nitrogênio insolúvel em detergente ácido em função do N total, ^bEPM, Erro padrão da média; ^cP-Valor, Probabilidade de efeito das doses de BENZ; L: Linear, Q: Quadrático.

Os teores de FDN, FDA, hemicelulose, celulose, lignina e FDNcp ajustaram-se a modelos lineares ($P < 0,05$), em função das doses de BENZ (Figura 2).

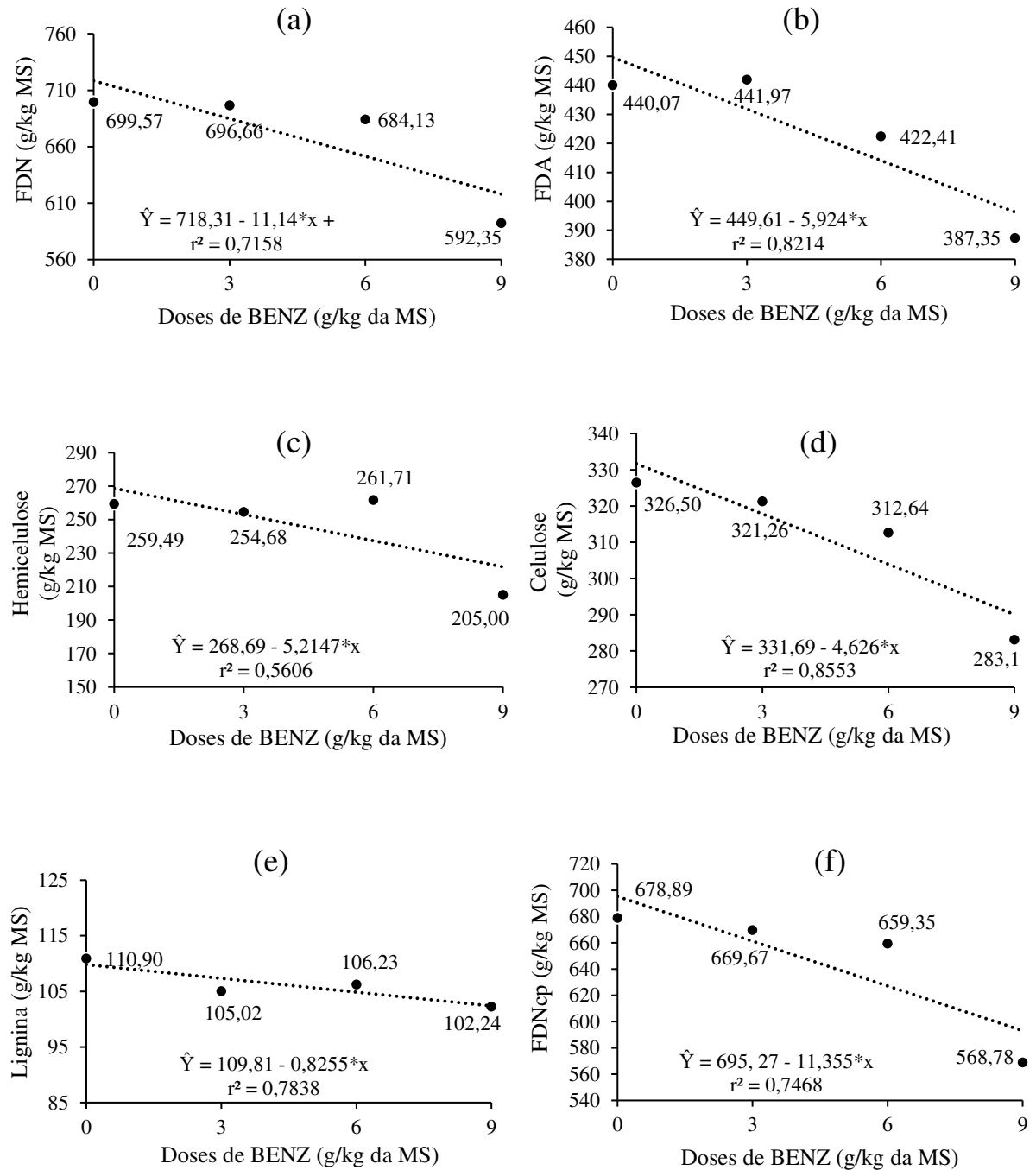


Figura 2. Teores de fibra em detergente neutro (FDN) (a), fibra em detergente ácido (FDA) (b), hemicelulose (c), celulose (d), lignina (e) e fibra em detergente neutro corrigido pra cinzas e proteínas (FDNcp) (f) das silagens de sorgo AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ).

3.3. Degradabilidade *in vitro*

Na Tabela 6 são apresentados os P-valores e o erro padrão da média para os parâmetros de degradabilidade *in vitro* da MS das silagens.

A fração “a” (fração solúvel) da degradabilidade *in vitro* da MS ajustou-se a um modelo quadrático ($P = 0,03$), estimando-se valor mínimo de 11,95, na dose 5,25 g/kg de MS do BENZ, enquanto que as frações “b” ($P = 0,03$), “c” ($P = 0,006$), degradabilidade potencial ($P = 0,01$) e degradabilidade efetiva a 5%/h ($P < 0,001$), ajustaram-se a modelos lineares (Figura 5). A degradabilidade efetiva a 8%/h ajustou-se a um modelo quadrático ($P = 0,026$), estimando-se valor mínimo de 22,53%, na dose de 5,76 g/kg de MS (Figura 5).

Os comportamentos das variáveis, fração “a” “b”, “c”, DP e DE nas silagens, em função das doses de BENZ, estão demonstrados na Figura 3.

Tabela 6. Parâmetros médios da degradabilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de sorgo em função das doses crescentes de BENZ.

Parâmetros ^a	Doses de BENZ (g/kg da MS)				EPM ^b	P-valor ^c	
	0	3	6	9		L	Q
a (%)	15,69	11,36	13,2	13,24	0,636	0,690	0,030
b (%)	41,09	48,66	46,77	49,64	1,151	0,033	0,163
c (%/h)	0,029	0,024	0,022	0,021	0,001	0,006	0,162
DP (%)	56,78	60,03	59,99	62,87	0,714	0,011	0,593
DE 5%/h (%)	30,86	27,08	27,59	27,79	0,506	<0,001	0,053
DE 8%/h (%)	26,70	22,56	23,40	23,46	0,546	0,136	0,026

^aa, Fração solúvel; b, Fração potencialmente digestível; c, taxa de degradação da fração b; DP, Degradabilidade potencial; DE, Degradabilidade efetiva; ^bEPM, Erro padrão da média; ^cP-Valor, Probabilidade de efeito das doses crescentes de BENZ; L, Linear; Q, Quadrático.

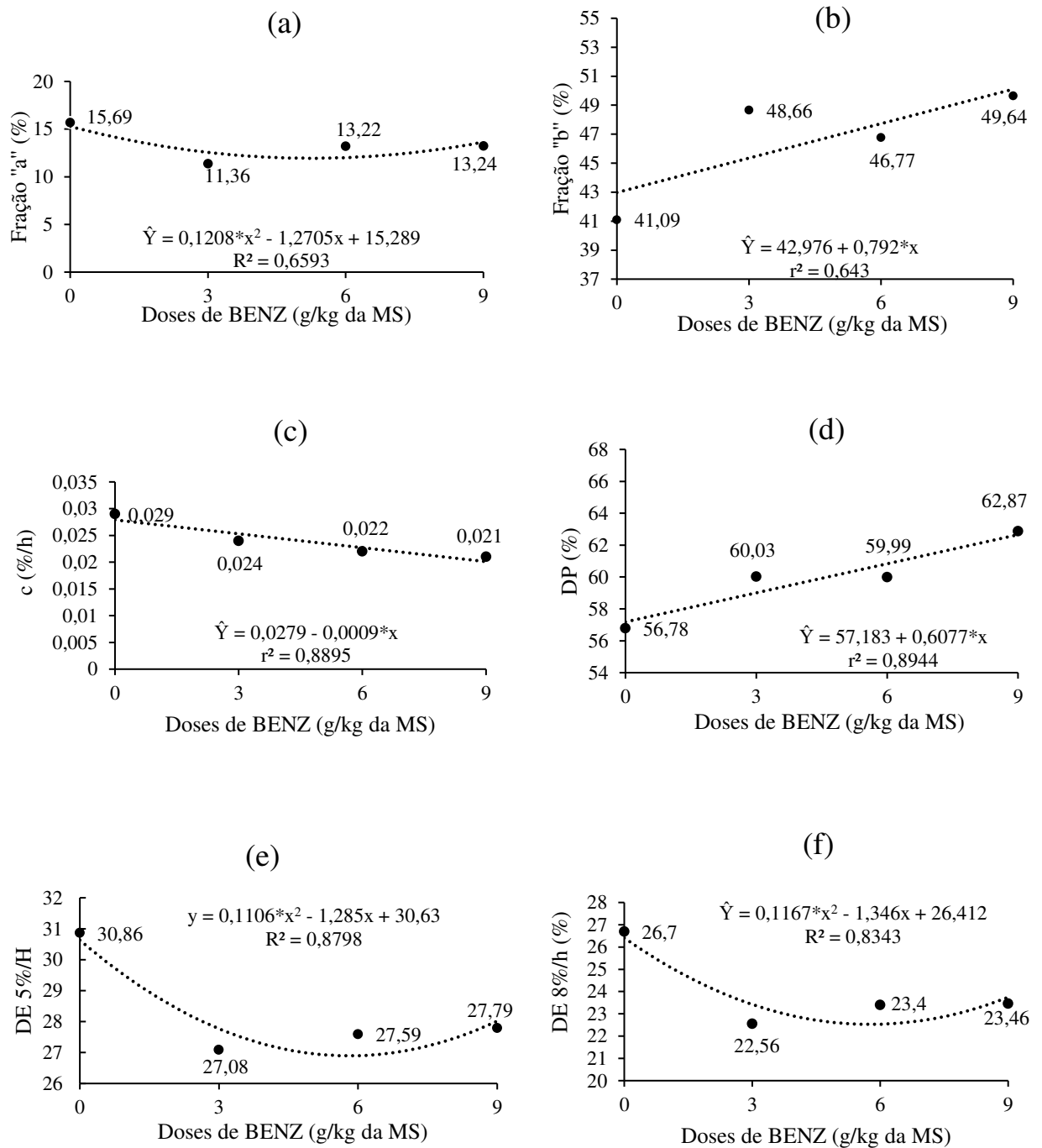


Figura 3. Fração solúvel "a" (a), fração potencial digestível "b" (b), taxa de degradação da fração "b" (c), DP, Degradabilidade potencial (d), DE 5%/h, Degradabilidade efetiva a 5%/h (e), DE 8%/h, Degradabilidade efetiva a 8%/h (f), das silagens de sorgo AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ).

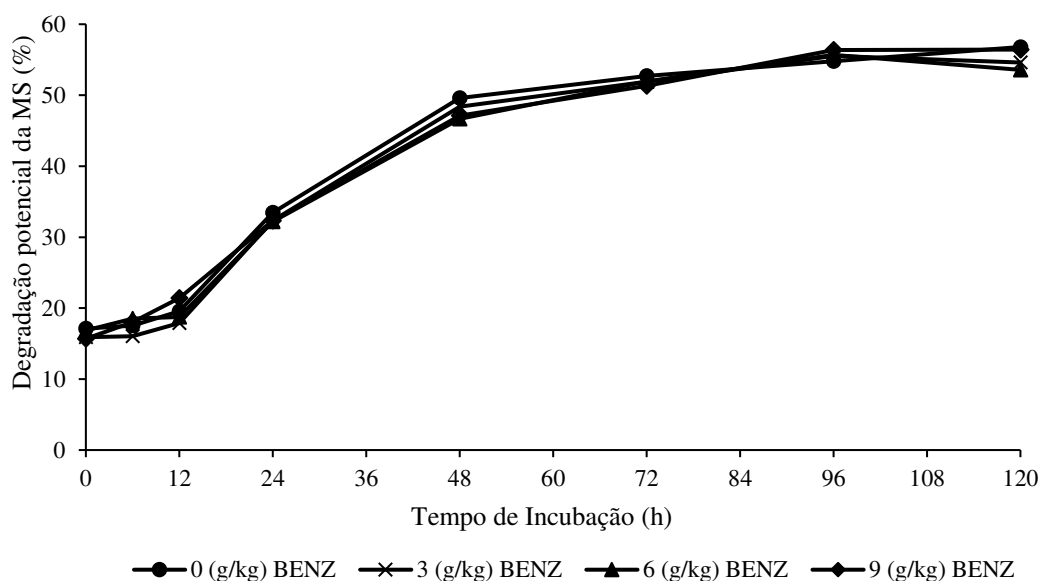


Figura 4. Degradação potencial da matéria seca (MS) de silagens de AGRI 002E em função dos tempos para as doses crescentes de blend enzimático (BENZ).

Na Tabela 7 são mostrados os P-valores e o erro padrão da média para os parâmetros de degradabilidade *in vitro* da FDN das silagens, cujas características avaliadas não foram afetadas ($P > 0,05$) pelas doses de BENZ.

Tabela 7. Parâmetros médios da degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro de silagens de sorgo em função das doses de BENZ.

Item ^a	Doses de BENZ (g/kg da MS)				EPM ^b	P-valor ^c	
	0	3	6	9		L	Q
B	48,31	49,73	47,0	50,92	0,597	0,998	0,585
kd ^d	0,043	0,057	0,039	0,027	0,004	0,067	0,094
I	54,32	53,43	53,8	49,02	0,747	0,229	0,293

^aB, Fração potencialmente degradável; kd, Taxa de degradação da fração b; I, Fração indigestível da fibra; ^bEPM, Erro padrão da média; ^cP-Valor, Probabilidade de efeito das doses crescentes de blend enzimático (BENZ); L, Linear; Q, Quadrático; ^d(h⁻¹).

A taxa de desaparecimento da FDN é mostrada na Figura 5. Observa-se, estabilização desta após 48h de incubação.

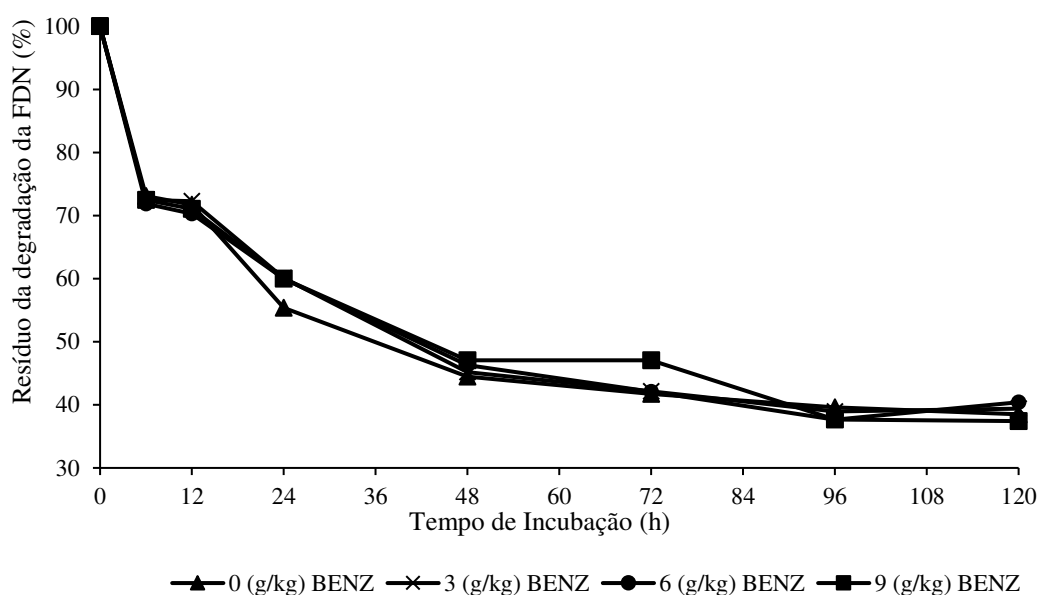


Figura 5. Resíduo da degradação da fibra em detergente neutro (FDN) de silagens de AGRI 002E em função das doses crescentes de blend enzimático (BENZ).

4. DISCUSSÃO

4.1. Perfil fermentativo

Com base nos valores de pH das silagens, pode-se inferir que a fermentação do material foi adequada, pois situam-se próximo daqueles considerados como satisfatórios (3,8 a 4,2) para conservação de silagens (Kung Jr. et al., 2018). O decréscimo linear no pH das silagens em função das doses de BENZ pode indicar que as enzimas presentes atuaram na degradação da parede celular, disponibilizando açúcares solúveis que podem ter sido utilizados pelas BAL, proporcionando melhores condições para o crescimento destas, ocasionando a obtenção de valores reduzidos de pH, característica importante para evitar a perda de nutrientes e o crescimento de microrganismos indesejáveis (McDonald et al., 1991; Kung Jr. et al., 2003; Lemos et al., 2020). Porém, biologicamente, a magnitude desse decréscimo no pH tem pouca relevância, visto que o pH das silagens avaliadas foi baixo.

Resultados semelhantes também foram verificados por Del Valle et al. (2018) e por Lemos et al. (2020), que relataram menores valores de pH em função de doses crescentes da enzima xilanase, em silagem de cana-de-açúcar, e de enzimas celulase e xilanase, em silagem de capim-elefante, respectivamente.

Apesar do efeito estatístico, verificou-se que os teores de CHOs residuais ficaram abaixo de 20 g/kg MS (Tabela 4), indicando que os CHOs disponíveis foram consumidos durante o

processo fermentativo (Bureenok et al., 2019). O aumento linear no teor de CHOs residuais em função do aumento da dose de BENZ, provavelmente se deve a liberação de carboidratos da parede celular por meio da hidrólise ácida da celulose e da hemicelulose, pois durante a degradação da celulose, várias enzimas agem em associação (Bolsen et al., 1988; Muck et al., 2018). Portanto, a quebra dessas macromoléculas em moléculas menores, e a solubilização parcial de seus componentes, proporciona a liberação de açúcares solúveis, glicose, frutose, oriundos da quebra da celulose, e pentoses oriundas da degradação da hemicelulose (Bolsen et al., 1988; Kung Jr., 2003; Muck et al., 2018). Resultados semelhantes também foram verificados por Romero et al. (2015), ao avaliarem o efeito de doses de misturas de enzimas fibrolíticas sobre o perfil fermentativo da silagem de capim-bermuda, e por Colombatto et al. (2004), ao avaliarem três níveis de enzima xilanase de dois produtos comerciais em silagem de milho planta-inteira.

As concentrações de N-NH₃ das silagens de sorgo abaixo de 100 g N-NH₃/kg nitrogênio total, observadas no presente estudo são indicadores de silagens de boa qualidade e podem estar associadas aos valores reduzidos de pH, que inativa enzimas proteolíticas da planta, reduz a proteólise dos compostos nitrogenados (Kung e Bedrosian, 2010) e inibe microrganismos proteolíticos, reduzindo o potencial de fermentação clostrídica e preservando assim o valor nutritivo das silagens (Muck, 1988; Kung Jr. et al., 2018).

4.2. Populações microbianas

A contagem de BAL de 5,54 log ufc/g em plantas de sorgo, no momento da ensilagem, é superior àquela de 5 log ufc/g material fresco, sugerida por Muck (1991), como adequada para proporcionar uma boa fermentação da massa ensilada.

A não detecção de enterobactérias, é algo desejável, pois são microrganismos indesejáveis na silagem, e sua ausência pode ser um indicador de qualidade (Weiss et al., 2016), além disso, esse grupo microbiano não se desenvolve em pH ácido, com valores abaixo de 4,5 (Kung Jr. et al., 2015), conforme verificado no presente estudo.

A população média de leveduras de 3,59 log ufc/g é inferior a aquela de 5 log ufc/g, reportada por Pahlow et al. (2003), abaixo da qual as silagens são menos propensas a problemas de estabilidade aeróbia. As leveduras são microrganismos deletérios indesejáveis, capazes de crescer em um amplo intervalo de pH e responsáveis pelo início da deterioração aeróbia, pois degradam açúcares solúveis e ácidos orgânicos, convertendo em etanol e CO₂, que volatilizam e resultam em perdas de MS (Driehuis & Van Wixselaar, 2000), promovem aumento da

temperatura e do pH, criando condições favoráveis para o crescimento de fungos, clostrídios e enterobactérias (Pahlow et al., 2003; Ávila & Carvalho, 2020).

Por outro lado, a população média de fungos, de 2,24 log ufc/g, é ligeiramente superior à contagem de 2 log ufc/g, acima da qual poderá comprometer a qualidade da silagem (Borreani et al., 2018). Os fungos são microrganismos que estão envolvidos em reações indesejáveis na silagem, pois consomem os açúcares e o ácido lático produzido, além de reduzir a estabilidade aeróbia da silagem, pois degradam componentes solúveis, elevam as perdas de nutrientes e ainda podem produzir micotoxinas, as quais apresentam risco para a saúde animal e humana (Scudamore & Livesey, 1998; Fabiszewska et al., 2019; Kalúzová et al., 2022).

4.3. Composição química das silagens

No momento do corte, as plantas de sorgo apresentaram teor médio de MS $242,06 \pm 0,31$ g MS/kg, inferior aos 300 g MS/kg sugeridos por McDonald et al. (1991), para que ocorra uma boa fermentação.

O decréscimo linear observado nos teores de FDN, FDA, hemicelulose, celulose, lignina e FDN_{cp} nas silagens, em função das doses de BENZ, pode ser atribuído a atuação das enzimas fibrolíticas (celulase, betaglucanase, xilanase) presentes no BENZ, que solubilizaram parcialmente os componentes da fração fibrosa (celulose, hemicelulose, xilanas, betaglucanas) proporcionando menores valores a medida que aumentou as doses de BENZ (Dean et al., 2005), uma vez que as enzimas fibrolíticas podem potencializar a hidrólise enzimática de componentes fibrosos (Hristov et al., 2000; Beauchemin et al., 2003), sendo a redução no teor de fibras uma das características de destaque no uso dessas enzimas (Muck et al., 2018; Zilio et al., 2019).

As enzimas celulasas ao hidrolisar a celulose disponibilizam moléculas de glicose para serem utilizadas na fermentação, resultando na redução dos teores de FDN e FDA. O sistema enzimático das celulasas é composto por um conjunto de hidrolases glicosídicas, que envolvem três tipos de enzimas: as endoglucanases que agem na região interna da fibra de celulose e liberam compostos menores formados por poucas unidades de glicose, denominados de oligossacarídeos; as exoglucanases, que agem nas extremidades das fibras de celulose e liberam unidades de glicose ou celobiose, que são compostos menores, formados por duas unidades de glicose; e as beta-glicosidases, que quebram a ligação química existente entre as duas unidades de glicose que formam a celobiose, liberando unidades de glicose, esses três componentes atuam de forma sinérgica na hidrólise da celulose (Dillon, 2004; Zhang et al., 2007). Assim como as celulasas, as xilanas também atuam sobre a parede celular das plantas, e catalisam a hidrólise das xilanas (Polizeli et al., 2005).

Resultados semelhantes aos verificados nesse estudo também foram constatados por Capana et al. (2022), ao avaliarem o valor nutritivo e perfil fermentativo de silagens de sorgo em função de diferentes doses de enzimas fibrolíticas. Os autores observaram efeito quadrático para FDN e FDA, e justificaram que esse efeito enzimático está associado a melhor degradação da xilana.

Celulases e hemicelulases podem atuar na liberação de carboidratos da parede celular da planta, tornando-os disponíveis para serem utilizados no processo fermentativo pelas BAL (Muck et al., 2018). A redução de FDN e FDA também foi verificada em estudos com enzimas fibrolíticas, realizados por Del Valle et al. (2018), Lemos et al. (2020) e Salvo et al. (2022).

O NIDN e o NIDA são compostos nitrogenados que se encontram ligados aos constituintes da parede celular da planta, sendo o primeiro digestível, porém de degradação lenta, e o segundo praticamente indigestível, ligado à lignina e a outros compostos (Van Soest, 1994). A concentração média de NIDA nas silagens (103,51 g/kg MS) está dentro da faixa considerada dentro da normalidade (3% a 15% na base da MS) (Van Soest, 1994).

4.4. Degradabilidade *in vitro*

O aumento na fração potencialmente digestível “b” e da degradabilidade potencial “DP” da MS, em função das doses de BENZ, pode estar associado ao aumento estimado dos CHOs residuais (Tabela 4) e dos valores reduzidos dos componentes da fração fibrosa, com destaque para a solubilização da celulose e da hemicelulose, e isso resultaria na melhor digestão dos nutrientes presentes na silagem (Beauchemin et al., 2003), pois as enzimas fibrolíticas possuem a capacidade de solubilizar parcialmente a FDN e a FDA e liberar açúcares redutores (Dean et al., 2005).

O efeito das enzimas fibrolíticas presentes no BENZ pode resultar em mudanças estruturais na superfície da fração fibrosa, o que permite melhor aderência e acesso dos microrganismos, promovendo aumento da colonização microbiana, e maior capacidade hidrolítica do rúmen (Morgavi et al., 2000; Nsereko et al., 2000; Wang et al., 2001) e, portanto, elevando a taxa de degradação no rúmen (Yang et al., 1999). Além disso, é provável que as enzimas exógenas atuem no rúmen após a ingestão do alimento, durante a fase inicial de colonização bacteriana das partículas do alimento antecedente ao início da digestão dos nutrientes (Chung et al., 2012).

O decréscimo observado na fração solúvel “a” das silagens em função das doses de BENZ, pode explicar os resultados da degradabilidade efetiva a 5 e 8%, causando redução dos valores (Tabela 6).

As enzimas fibrolíticas podem potencializar a hidrólise de polissacarídeos da parede celular (Feng et al., 1996; Del Valle et al., 2018) e contribuir para melhorias na digestibilidade *in vitro* da fração fibrosa, elevando a taxa de degradação da MS e do FDN no rúmen (Hristov et al., 2000; Romero et al., 2015).

A digestibilidade da forragem é fator limitante para ingestão de energia digestível por parte do animal, sendo um dos fatores que justificam o uso de enzimas exógenas em forragens como aditivos estimulantes de fermentação, visando reduzir a fração fibrosa, disponibilizar açúcares solúveis e melhorar a digestão dos alimentos (Beauchemin et al., 2003; Salvo et al., 2022). Apesar da redução nos teores de FDN e FDA (Tabela 5), nenhuma equação ajustou-se para a fração potencialmente degradável da FDN e fração indigestível da fibra (Tabela 7), o que pode ser atribuído ao efeito das enzimas fibrolíticas presentes no BENZ, que podem degradar a fração mais digerível dos componentes fibrosos, resultando os resíduos menos digeríveis (Liu et al., 2016).

CONCLUSÕES

A adição de blend enzimático resulta em melhor perfil fermentativo e composição química da silagem de sorgo biomassa AGRI 002E, por proporcionar maiores valores da fração potencialmente digestível e da degradabilidade potencial. Assim, recomenda-se a adição de 9 g/kg MS de BENZ, por ocasião da ensilagem de sorgo biomassa.

REFERÊNCIAS

- Adesogan, A. T.; Arriola, K. G.; Jiang, Y.; Oyebade, A.; Paula, E. M.; Pech-Cervantes, A. A.; Romero, J. J.; Ferraretto, L. F.; Vyas, D. Symposium review: Technologies for improving fiber utilization. **Journal of Dairy Science**. 102, 5726–5755. 2019.
- American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods** (Y. Salfinger & M. Lou Tortorello (eds.); 5th ed.). American Public Health Association (APHA). (2015).
- Ankom Technology - **In Vitro True Digestibility using the DAISY II Incubator** [on line], 2010. Disponível em < [http:// www.ankom.com](http://www.ankom.com) > Acesso em 10 de maio de 2022.
- AOAC. Official Methods of Analysis. In **Association of Official Analytical Chemists** (15th ed., Issue Volume 1). 1990.
- Ávila, C. L. S.; Carvalho, B. F. Silage fermentation—updates focusing on the performance of micro-organisms. **Journal of Applied Microbiology**, 128(4), 966–984. 2020.

- Beauchemin, K. A.; Colombatto, D.; Morgavi, D. P.; Yang, W. Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 37–47, 2003.
- Beauchemin, K. A.; Colombatto, D.; Morgavi, D. P. A ratio-nale for the development of feed enzyme products for ruminants. **Canadian Journal Animal Science**. 84:23–36. 2004.
- Bolsen, K. K.; ILG, H. I.; AXE, D. E. Additives for com silage. **Journal Animal Science**. 5 1 (Suppl. 1):230 (Abstr.). 1980.
- Bolsen, K. K.; Laytimi, A.; Schirhammer, J. Effect of enzyme and inoculant additives on preservation and feeding value of sorghum silages. **Journal Animal. Science**. 66(Suppl. 1):367. 1988.
- Bommarius, A. S.; A. Katona, S. E.; Cheben, A. S.; Patel, A. J. Ragaus-Kas, K. Knudson; Y. PU. Cellulase kinetics as a function of cellulose pretreatment. **Metabolic Engineering**. 10:370–381. 2008.
- Borreani, G.; Tabacco, E.; Schmidt, R. J.; Holmes, B. J.; Muck, R. E. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, 101(5), 3952–3979. (2018).
- Bureenok, S.; Langsoumechai, S.; Pitiwittayakul, N.; Yuangklang, C.; Vasupen, K., Saenmahayak, B.; Schonewille, J. T. Effects of fibrolytic enzymes and lactic acid bacteria on fermentation quality and in vitro digestibility of Napier grass silage. **Italian Journal of Animal Science**, 18(1), 1438-1444. 2019.
- Campana, M.; de Moraes, J. P. G.; Capucho, E.; Garcia, T. M., Pedrini, C. A.; Gandra, J. R.; Del Valle, T. A. Fibrolytic enzymes increases fermentation losses and reduces fiber content of sorghum silage. **Annals of Animal Science**. 2022.
- Carvalho, A. P. S.; Behling Neto, A.; Carvalho, K. N.; Cabral, L. B. S.; Abreu, J. G.; Sousa, D. P.; Pereira, R. H.; Cabral, C. E. A. Chemical composition, kinettics of degradation, and digestibility of forage of different purpose sorghum cultivars. **Ciências Agrárias Londrina**. 41(2):607-620. 2020.
- Caraffa, M.; Riffel, C.T.; Carneiro, E.A.; Zawacki, M.E.; Witczak, G.P. Ensaio Estadual de avaliação de genótipos de sorgo silageiro-sacarino, Três de Maio, RS, na safra 2016/17. **Anais... 45º Reunião Técnica Anual da Pesquisa do sorgo**. p.182-185. 2017.
- Chung, Y. H.; Zhou, M.; Holtshausen, L.; Alexander, T. W.; McAllister, T. A.; Guan, L. L., Oba, M.; Beauchemin, K. A. A fibrolytic enzyme additive for lactating Holstein cow diets: ruminal fermentation, rumen microbial populations, and enteric methane emissions. **Journal of dairy science**, 95(3), 1419-1427. 2012.
- Cysneiros, C. S. S.; Franco, G. L.; Ulhoa, C. J.; Diogo, J. M. S.; Ramos, A.K.B. Efeito de enzimas fibrolíticas sobre a composição química da silagem de milho. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 339-348, 2006.
- Colombatto, D.; Mould, F. L.; Bhat, M. K.; Phipps, R. H. Owen, E. In vitro evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage. I. Effects of ensiling

- temperature, enzyme source and addition level. **Animal Feed Science Technology**. 111, 111–128. 2004.
- Dean, D. B.; Adesogan, A. T.; Krueger, N.; Littell, R. C. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermudagrass silage. **Journal Dairy Science**. 88, 994–1003. 2005.
- Del Valle, T. A., Antonio, G., Zenatti, T. F., Campana, M., Zilio, E. M. C., Ghizzi, L. G., Gandra, J. R., Osório, J. A. De Moraes, J. P. G. Effects of xylanase on the fermentation profile and chemical composition of sugarcane silage. **The Journal of Agricultural Science**, 156(9), 1123-1129. 2018.
- Dillon, A. Celulases. *In*: SAID, S.; PIETRO, R. C. L. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Legis Summa, p. 243-270. 2004.
- Driehuis, F.; Van Wixselaar, P.G. 2000. The occurrence and prevention of ethanol fermentation in high dry matter grass silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 80:711-718.
- Ellis, W. C.; Matis, J.H.; Hill, T. M.; Murphy, M. R. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of foragens. *In*: FAHEY J.R., G.C. (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: **American Society of Agronomy**, p. 450-493, 1994.
- Fabiszewska, A. U.; Zielińska, K. J.; Wróbel, B. Trends in designing microbial silage quality by biotechnological methods using lactic acid bacteria inoculants: a minireview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 35(5), 76–89. 2019.
- Feng, P.; Hunt, C. W.; Pritchard, G. T.; Julien, W. E. Effect of enzyme preparations on in situ and in vivo additives degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, n.6, p. 1349-1357, 1996.
- 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. **Journal of Animal Science**, v.78, p.477- 487, 2000.
- Kalúzová, M.; Kačániová, M.; Bíro, D.; Šimko, M.; Gálik, B.; Rolinec, M.; Hanušovský, O.; Felšöciová, S.; Juráček, M. The Change in Microbial Diversity and Mycotoxins Concentration in Corn Silage after Addition of Silage Additives. **Diversity**, 14(8), 592. 2022.
- Kaewpila, C., Khota, W., Gunun, P., Kesorn, P.; Cherdthong, A. Strategic addition of different additives to improve silage fermentation, aerobic stability and in vitro digestibility of Napier grasses at late maturity stage. **Agriculture**. 10, 262. 2020.
- Köppen, W. (1918). Klassifikation der Klimate nach Temperatur, Niederschlag und Jahreslauf. **Petermanns Geographische Mitteilungen**, 64, 193–203.
- Kung Junior, L.; Bedrosian, M. D. How well do we really understand silage fermentation. **Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers**. Cornell University, Ithaca, NY. p. 87–93. 2010.
- Kung Junior, L.; Lim, J. M.; Hudson, D. J.; Smith, J. M.; Joerger, R. D. Chemical composition

- and nutritive value of corn silage harvested in the northeastern United States after Tropical Storm Irene. **Journal of Dairy Science**, 98(3), 2055–2062. 2015.
- Kung Junior, L.; Taylor, C. C.; Lynch, M. P.; Neylon, J. M. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 86(1), 336–343. 2003.
- Kung Junior, L.; Stokes, M. R.; Lin, C. J. Silage additives. **Silage science and technology**. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA. p.305- 360, 2003.
- Kung Junior, L.; Shaver, R. D.; Grant, R.J.; Schmidt, R. J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal Dairy Science**. 101, 4020–4033. 2018.
- Krause, D. O.; Denman, S. E.; Mackie, R. I.; Morrison, M.; Rae, A. L.; Attwood, G. T.; MCSWEENEY, C. S. Opportunities to improve fiber degradation in 24 the rumen: microbiology, ecology, and genomics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 5, p. 663-93, Dec, ISSN 0168-6445 (Print) 0168-6445. 2003.
- Krueger, N. A.; Adesogan, A. T.; Staples, C. R. Effect of method of applying fibrolytic enzymes or ammonia to Bermuda grass hay on feed intake, digestion, and growth of beef steers. **Journal of Animal Science**, v.86, p.882-889, 2008.
- Lemos, M. F.; Andrade, A. P.; Quadros, D. G. de; Silva, P. H. F. da; Santos, C. O.; Souza, C. F. B.; Silva, M. A. V.; Medeiros, A. S.; Oliveira Neto, P. M. de. Nutritional value, fermentation losses and aerobic stability of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) silage treated with exogenous fibrolytic enzymes. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.42, e.48272, 2020.
- Licitra, G., Hernandez, T. M., & Van Soest, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, 57(4), 347–358. 1996.
- Li, J.; Yuan, X.; Dong, Z.; Mugabe, W.; Shao, T. The effects of fibrolytic enzymes, cellulolytic fungi and bacteria on the fermentation characteristics, structural carbohydrates degradation, and enzymatic conversion yields of *Pennisetum sinense* silage. **Bioresource Technology**, v.264, p.123–130, 2018.
- Liu Q. H.; Li, X. Y.; Desta S. T.; Zhang J. G.; Shao T. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and *in vitro* digestibility of total mixed rations silage including rape straw. **Journal Integrative Agriculture**., 15: 2087-2096. 2016.
- Gomes, D. I.; Detmann, E.; Valadares Filho, S. de C.; Fukushima, R. S.; de Souza, M. A.; Valente, T. N. P.; Paulino, M. F.; de Queiroz, A. C. Evaluation of lignin contents in tropical forages using different analytical methods and their correlations with degradation of insoluble fiber. **Animal Feed Science and Technology**, 168(3–4), 206–222. 2011.
- 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. **Journal of Animal Science**, v.78, p.477- 487, 2000.

- Marten, G. C.; Barnes, R. F. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems. In: PIGDEN, W.J.; BALCH, C.C.; GRAHAM, M. (Eds.) **Standardization of analytical methodology for feeds**. Ottawa, IDRC, p.61-71. 1980.
- Machado, M. G.; Detmann, E.; Mantovani, H. C.; Valadares Filho, S. C.; Bento, C. B. P.; Marcondes, M. I.; Assunção, A. S. Evaluation of the length of adaptation period for changeover and crossover nutritional experiments with cattle fed tropical forage-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, 222, 132–148. 2016.
- Machado, F. S.; Rodríguez, N. M.; Rodrigues, J. A. S.; Ribas, M. N.; Teixeira, A. M.; Ribeiro Júnior, G. O.; Velasco, F. O.; Gonçalves, L. C.; Guimarães Júnior, R.; Pereira, L. G. R. Qualidade da silagem de híbridos de sorgo em diferentes estádios de maturação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 64(3), 711-720.
- Mertens, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, 85(6), 1217–1240. 2002.
- McDonald, I. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v.96, p.251-252, 1981.
- McDonald, P.; Henderson, N.; Heron, S. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Bucks: Chalcombe Publications, 340p. 1991.
- Morgavi, D. P.; V. L. Nsereko, L. M. Rode, K. A. Beauchemin, T. A. McAllister, and Y. Wang. Effect of Trichoderma feed enzyme on growth and substrate degradation by *Fibrobacter succinogens* F85. **Reprod. Nutr. Dev.** 40:219. 2000.
- Muck, R. E. Factors Influencing Silage Quality and Their Implications for Management. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n11, p2992–3002, 1988.
- Muck, R. E.; Kung Junior, L. Effects of silages additives on ensiling. In: THE SILAGE: FIELD TO FEED BUNK NORTH AMERICAN CONFERENCE, Hershey. **Proceedings...** Hershey: National Regional Agricultural Engineering Service. 1997. P.187-199. 1997.
- Muck, R. E. Silage fermentation. In: **Mixed cultures in biotechnology**. New York: McGraw Hill Inc. p.171-204. 1991.
- Muck, R. E.; Nadeau, E. M. G.; McAllister, T. A.; Contreras-Govea, F. E.; Santos, M. C.; Kung Junior, L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, 101(5), 3980-4000. 2018.
- Nelson, N. A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose. **Journal of Biological Chemistry**, 153(2), 375–380. 1944.
- Nsereko, V. L.; Morgavi, D. P.; Beauchemin, K. A., Rode, L. M.; Furtado, A. F.; McAllister, T. A. Effects of feeding fungal feed enzyme preparation on the rumen microbial population. **Reprod. Nutr. Dev.** 40:219–225. 2000.

- Ohshima, M.; McDonald, P. A Review of Changes in Nitrogenous compounds in herbage during ensiling. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London. 29 (6), 497-505. 1978.
- Okuda, H.; Fujii, S.; Kawashima, Y. A direct colorimetric determination of blood ammonia. **Tokushima Journal of Experimental Medicine**, 12, 11–23. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19661405652>. 1965.
- Pahlow, G.; Muck, R.E.; Driehuis F. 2003. Microbiology of ensiling. Silage Science and Technology. Madison. **Proceedings...**Madison: ASCSSA-SSSA, Agronomy, v. 42, p. 31-93, 2003.
- Polizeli, M. L. T.; Rizzatti, A. C. S.; Monti, R.; Terenzi, H. F.; Jorge, H. F.; Amorim, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied Microbiology Biotechnology**, Berlin, v. 67, p. 577-591. 2005.
- Queiroz, F. E.; Rocha JR. V. R.; Monção, F. P.; Rigueira, J. P. S.; Parrella, R. A. C.; Rufino, L. D. A.; Santos, A. S.; Cordeiro, M. W. S. Effect of row spacing and maturity at harvest on the fermentative profile, aerobic stability, and nutritional characteristics of biomass sorghum (BRS 716) silage in the semiarid region of Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 50(1). 2021.
- Ramos, J. C. P.; Rocha, V. R. JR.; Monção, F. P.; Parrella, R. A. C.; Caxito, A. M.; Cordeiro, M. W. S. C.; Da Hora, F. F.; Pires, D. A. A. Effect of replacing forage sorghum silage with biomass sorghum silage in diets for F1 Holstein × Zebu lactating cows. **Tropical Animal Health and Production**, 53(1), 1-12. 2021.
- Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; Viana, V. H. A. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5 a Aproximação. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5º Aproximação**. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. 1999.
- Romero, J. J.; Zarate, M. A.; Adesogan, A. T. Effect of the dose of exogenous fibrolytic enzyme preparations on preingestive fiber hydrolysis, ruminal fermentation, and in vitro digestibility of bermudagrass haylage. **Journal of Dairy Science**, 98(1): 406-417. 2015.
- Romero, J. J.; Zarate, M. A.; Arriola, K. G.; Gonzalez, C. F.; Silva- Sanchez, C.; Staples, C. R.; Adesogan, A. T. Screening exogenous fibrolytic enzyme preparations for improved in vitro digestibility of bermudagrass haylage. **Journal Dairy Science**. 98:2555–2567. 2015.
- Salvo, P.; Gritti, V.; Silva, É. D.; Nadeau, E.; Daniel, J.; Spindola, M.; Nussio, L. Exogenous Fibrolytic Enzymes and Length of Storage Affect the Nutritive Value and Fermentation Profile of Maize Silage. **Agriculture**, 12(9), 1358. 2022.
- Santos, H. G.; Jacomine, P. K. T.; Anjos, L. H. C.; Oliveira, V. A.; Oliveira, J. B., Coelho, M. R.; Lumberras, J. F.; Cunha, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**, 3rd ed. Embrapa Solos, Rio de Janeiro. 2013.
- SAS Institute Inc., Cary, NC, U. **Statistical Analysis Systems User's Guide** (9.4). SAS Institute, Inc. 2010.

- Silva, D. J.; Queiroz, A. C. *Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos*. 3 ed. Viçosa: **Editora UFV**, 2002. 235p.
- Silva, D. P.; Pedroso, A. M.; Pereira, M. C. S.; Bertoldi, G. P.; Watanabe, H. M.; Melo, A. C. B.; Millen, D. D. Survey of management practices used by Brazilian dairy farmers and recommendations provided by 43 dairy cattle nutritionists. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 99, n. 4, p. 890-904, 2019. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0004>. 2019.
- Scudamore, K. A.; Livesey, C. T. Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 77:1-17. 1998.
- Tirado-González, D. N., Miranda-Romero, L. A.; Ruíz-Flores, A.; Medina-Cuéllar, S. E.; Ramírez-Valverde, R.; Tirado-Estrada, G. Meta-analysis: Effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. **Journal of Applied Animal Res.** 46:771–783. 2018.
- Van Milgen, J.; Murphy, L. L.; Berger, L. L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2515-2529,1991.
- Van Soest, P. J.; MASON, V. C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**. v. 32, p. 45-53, 1991.
- Van Soest, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. New York: Cornell University, 1994. 476 p.
- Venturini, T. Caracterização da silagem do sorgo forrageiro Agri 002E e utilização na alimentação de bovinos. 2019. 148 f. **Tese (Doutorado)** - Curso de Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, 2019.
- Wang, Y.; McAllister, T. A.; Rode, L. M.; Beauchemin, K. A.; Morgavi, D. P.; Nsereko, V. L.; Iwaasa, A. D.; Yang, W. Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the rumen simulation technique (Rusitec). **British Journal of Nutrition**. 85:325–332. 2001.
- Weiss, K.; Kroschewski, B.; Auerbach, H. Effect of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeasts count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. **Journal of Dairy Science**. 99:8053-8069. 2016.
- Weinberg, Z. G.; Muck, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v.19, p.53-68, 1996.
- Woolford, M. K. 1984. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker. p. 23-132, 1984.
- Zilio, E. M. C.; Del Valle, T. A.; Ghizzi, L. G; Takiya, C. S.; Dias, M. S. S.; Nunes, A. T.; SILVA, G. G.; RENNÓ, F. P. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Brasil, v.102, p.1–11, 2019.
- Zhang, Y. H. P.; Schell, D. J.; McMillan, J. D. Methodological analysis for determination of enzymatic digestibility of cellulosic materials. **Biotechnology Bioengineering**, 96(1):188–194. 2007.

Capítulo II - EFEITO DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS SOBRE O CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM SILAGENS DE DIETAS COMPLETAS

Resumo

Foram avaliados o consumo, a digestibilidade dos nutrientes e o desempenho de ovinos confinados alimentados com silagens de dietas completas à base de sorgo forrageiro, aditivadas com um combo de enzimas fibrolíticas [ENZF (celulase, beta-glucanase, xilanase)] em diferentes métodos de aplicação. Foram usados 24 ovinos F1 Santa Inês × Dorper, com peso corporal médio de $24,91 \pm 3,52$ kg distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e oito repetições. Os tratamentos corresponderam a dieta completa (TMR) na forma de silagem à base de sorgo forrageiro sem aplicação de enzimas fibrolíticas (TMR-SE), silagem de TMR com aplicação de ENZF no momento da ensilagem (TMR-EE), e silagem de TMR com aplicação de ENZF no momento do trato animal (TMR-ET). A silagem na forma de TMR foi composta por fubá de milho, farelo de soja, ureia e núcleo mineral-vitamínico, com relação volumoso: concentrado de 40:60, base da matéria seca (MS). O período experimental teve duração de 60 dias, com 14 dias de adaptação e 46 dias de coleta de amostras e dados. Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$) sobre os consumos de MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), extrato etéreo (EE), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), cujos valores médios foram 1314,5; 1228,9; 184,6; 363,1; 122,8; 41,39; 675,1 e 890,4 g/dia, respectivamente. As digestibilidades totais aparentes da MS, MO, PB, FDNcp, EE e CNF também não foram afetadas ($P > 0,05$) pelas dietas, apresentando valores médios de 652,38; 675,28; 634,93; 365,37; 885,79 e 836,70 g/kg MS, respectivamente. O desempenho animal também não foi influenciado ($P > 0,05$) pela adição de ENZF, independentemente da forma de aplicação, apresentando ganho médio diário de 239,39 g/dia. Conclui-se, que a adição de enzimas fibrolíticas exógenas em silagem de sorgo na forma de TMR, na ocasião da ensilagem ou no momento de alimentação dos animais, não altera o consumo, nem a digestibilidade dos nutrientes.

PALAVRAS-CHAVES: Confinamento; Dieta total; Sorgo; Celulase; Xilanase.

1. INTRODUÇÃO

Apesar da produção de animais ruminantes em regiões tropicais estar alicerçada, majoritariamente em pastos cultivados, a estacionalidade da produção de forragem é reconhecida como um dos principais fatores responsáveis pelos baixos índices de produtividade da pecuária nacional. Práticas de conservação de forragens, tais como fenação e ensilagem, são alternativas para transpor a instabilidade anual na disponibilidade e qualidade da forragem, tornando o sistema pecuário mais equilibrado do ponto de vista produtivo (Evangelista e Tavares, 2009; Bravin et al., 2020).

A silagem é um produto proveniente da conservação de forrageiras perenes ou anuais, que se baseia na fermentação em meio anaeróbio dos carboidratos solúveis em água presentes nas plantas à ácidos orgânicos (principalmente, ácido lático) pelas bactérias epifíticas ou inoculadas (Weinberg & Muck, 1996).

Diversas plantas perenes e anuais apresentam características adequadas para serem ensiladas, no entanto, as culturas de milho e sorgo são as mais utilizadas para confecção de silagem, com destaque para a cultura do milho. Entretanto, o sorgo apresenta algumas características de melhor adaptação para cultivo em regiões que apresentam déficit hídrico, ou em solos de baixa a média fertilidade, além do seu potencial de rebrotação, permitindo colher maior quantidade de MS por hectare (Perazzo et al., 2017; Yang et al., 2019).

Dentre as alternativas e tecnologias que têm sido utilizadas na produção animal com intuito de aproveitar forrageiras e resíduos agroindustriais com elevado teor de umidade, destaca-se a silagem de dieta completa (TMR). A silagem de TMR é uma técnica onde os ingredientes que irão compor a ração são selecionados com antecedência e ensilados em conjunto, com base na composição química de cada um, objetivando formular uma dieta que atenda às exigências nutricionais de uma determinada espécie ou categoria animal, proporcionando melhorias no aproveitamento dos nutrientes e no processo fermentativo, reduzindo perdas (Bueno et al., 2020).

Pesquisas envolvendo silagem de TMR no Brasil são recentes (Gusmão et al., 2018; Restelatto et al., 2019; Fang et al., 2020; Lazzari et al., 2021), cujos resultados são promissores, enquanto que em países como Japão, China e Tailândia, os estudos estão mais avançados e tem demonstrado o potencial dessa prática na alimentação animal.

Os aditivos para silagem são utilizados com o objetivo de estimular e melhorar o perfil fermentativo ou reduzir perdas (Woolford, 1984). Dentre os aditivos utilizados para melhorar o uso de forragens na alimentação animal, as enzimas exógenas têm sido uma biotecnologia

emergente, que vem despertando interesse, principalmente as enzimas fibrolíticas, que podem agir melhorando a qualidade e o aproveitamento da fração fibrosa de alimentos volumosos (Mendoza et al., 2014).

Quando as ENZF são aplicadas em substratos com alto teor de fibra antes da alimentação, pode ocorrer a solubilização parcial da fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA), resultando na liberação de açúcares solúveis (Krueger et al., 2008; Romero et al., 2015). A adição de ENZF à dieta aumenta a capacidade hidrolítica do rúmen, principalmente devido ao aumento da adesão bacteriana (Wang et al., 2001) e estimulação dos microrganismos ruminais (Nsereko et al., 2000), ou seja, ocorre sinergismo entre as ENZF e os microrganismos ruminais, gerando maior digestão da celulose e xilana e, conseqüentemente, da silagem de milho a nível ruminal (Morgavi et al., 2000).

A aplicação de ENZF muitas vezes aumenta a hidrólise da fibra e a digestibilidade da FDN, o que explica parcialmente sua capacidade de melhorar o desempenho animal (Adesogan et al., 2019). Arriola et al. (2017), em estudo de meta-análise, reportaram que o uso de ENZF em dietas para vacas leiteiras resulta em aumento na produção de leite, devido a uma tendência das ENZF em melhorar a digestibilidade da FDN e MS. Em outros estudos envolvendo ENZF em dietas para ruminantes, foi observado aumento da produção de leite em vacas leiteiras (El-Bordeny et al., 2015; Kung et al., 2000; Schingoethe et al., 1999) e no ganho médio diário (GMD) em bovinos confinados (Beauchemin et al., 1999; McAllister et al., 1999), ou em cordeiros em crescimento (López-Aguirre et al., 2016), em resposta ao aumento da digestibilidade dos alimentos.

No intuito de promover maior eficiência na utilização das ENZF, a forma de aplicação ao alimento, tem sido objeto de inúmeros estudos (Dean et al., 2005; Dean et al., 2007; Adesogan et al., 2007; Arriola et al., 2017; Tirado-González et al. 2018). A aplicação direta dessas enzimas na dieta permite que açúcares contidos nos alimentos fiquem disponíveis e, em alguns casos, podem promover até mesmo a solubilização parcial da FDN e FDA. A modificação estrutural da parede celular pode ser considerada um indicativo da hidrólise dos componentes fibrosos, que ocorre momentos antes da fase de consumo (Bowman et. al, 2003).

A nossa hipótese é que a aplicação de um combo de enzimas fibrolíticas na ensilagem de dieta completa na forma de TMR, contendo sorgo forrageiro como fonte de forragem, reduz a fração fibrosa, aumenta a digestibilidade dos nutrientes e favorece o desempenho de ovinos confinados, quando comparada à aplicação de enzimas fibrolíticas no momento do trato animal. Existem poucos estudos em que foram avaliados o uso de enzimas fibrolíticas em diferentes formas de aplicação na ensilagem de TMR à base de sorgo forrageiro, criando uma lacuna sobre

os reais efeitos dessa técnica na alimentação animal, com destaque para o desempenho de ovinos em confinamento.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o consumo, a digestibilidade aparente dos nutrientes, o ganho médio diário e a conversão alimentar de cordeiros confinados alimentados com silagem de TMR, em dois métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento e condições climáticas

O experimento foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão (UEPE) em Nutrição e Produção de Ruminantes e no Laboratório de Forragicultura e Microbiologia da Silagem do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil, localizada na latitude Sul 20°45' e longitude Oeste 42° 51', com altitude média de 657 m. O clima é classificado como subtropical do tipo Cwa (Köppen, 1918).

2.2. Semeadura, colheita e ensilagem do sorgo

A adubação foi realizada de acordo com os resultados da análise de solo (Tabela 1), com base nas recomendações de adubação do Manual de cultivo agrícola para o estado de Minas Gerais (Ribeiro et al., 1999). No momento do plantio foram aplicados 32 kg/ha de N, 80 kg/ha de P₂O₅ e 80 kg/ha de K₂O, utilizando-se o adubo comercial N-P-K (8-28-16) (Fertilizantes Heringer®, Manhuaçu-MG, Brasil). Após 41 dias da semeadura, foi realizada adubação em cobertura com 100 kg/ha de N, na forma de ureia.

Tabela 1. Atributos químicos do solo da área experimental.

pH	P	K ⁺	Na	H ⁺ +Al ⁺³	Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	SB	CTC	V	MO
H ₂ O ----mg/dm ³ -----			-----cmol _c dm ³ -----							%	g/kg
5,4	2,2	123	0	4,29	0,1	1,94	0,79	3,04	3,14	41,5	-

pH, Potencial hidrogeniônico; P, Fósforo; K⁺, Potássio; Na⁺, Sódio; H⁺+Al⁺³, Acidez potencial; Al⁺³, Alumínio; Ca⁺², Cálcio; Mg⁺², Magnésio; V%, Saturação de bases; CTC, Capacidade de troca catiônica; MO, Matéria orgânica; SB, Soma das bases.

O sorgo forrageiro cv. Volumax (Agrocere®, Brasil) foi cultivado em uma área de 800 m², que foi preparada de maneira convencional, através de aração e gradagem, sendo adubado conforme a necessidade de nutrientes da cultura. A semeadura foi realizada dia 11 de novembro de 2020, de forma manual, com uma taxa de semeadura de 11 sementes por metro linear e espaçamento de 0,7 m entre linhas.

O sorgo foi colhido manualmente após 119 dias de cultivo, com teor médio de 273,38 \pm 0,26 g MS/kg, e em seguida foi processado em máquina forrageira estacionária (JF-60, JF-Máquinas®, Itapira-SP, Brasil) acoplada em tomada de potência do trator (Valmet-785, Valtra®, Mogi das Cruzes-SP, Brasil), em partículas de \cong 10 mm, e dividido em pilhas individuais de 500 kg, para aplicação dos tratamentos.

As ENZF foram diluídas em 250 mL de água destilada e aplicadas com borrifadores manuais de acordo com os tratamentos: silagem de dieta completa (TMR) à base de sorgo forrageiro sem aplicação de enzimas fibrolíticas (ENZF) exógenas (STMR-SE), silagem de TMR com aplicação de ENZF no momento da ensilagem (STMR-EE), e silagem de TMR com aplicação de ENZF no momento da alimentação dos animais (STMR-ET). O mesmo volume de água foi aplicado ao tratamento controle, STMR-SE. Em sequência, o material foi ensilado em *bags* de polietileno, com espessura de 200 micras e dimensões de 51 cm \times 110 cm (altura \times largura) (Silofort®), com o auxílio de máquina empacotadeira (Sertaneja elétrica gold®, Governador Valadares, MG, Brasil) e, posteriormente, os sacos foram submetidos a uma bomba a vácuo para retirada do ar, selados com braçadeiras plásticas e armazenados em temperatura ambiente.

2.3. Delineamento estatístico e dietas

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e oito repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Os tratamentos foram: STMR-SE, STMR-EE e STMR-ET. Foram utilizados oito animais por tratamento, F1 Santa Inês \times Dorper, machos, não-castrados com peso inicial médio de 24,91 \pm 3,52 kg, e idade entre seis e sete meses usando-se o peso dos mesmos como covariável.

O experimento teve duração de 60 dias, sendo 14 dias de adaptação e 46 dias de coletas de amostras e dados (alimento fornecido, sobras e fezes). As dietas experimentais foram isoprotéicas (140 g PB/kg MS) e isoenergéticas (700 g NDT/kg MS), formuladas com relação volumoso:concentrado de 40:60, base na MS, para atender às exigências de nutrientes para cordeiros com GMD de 200 g, segundo recomendações do NRC (2007). O volumoso utilizado para compor as dietas foi o sorgo forrageiro cv. Volumax (Agrocere®, Brasil). O concentrado foi composto por farelo de soja, fubá de milho, ureia, núcleo mineral-vitamínico (Ovicaprinúcleo, Nutriplan®, Juiz de Fora, MG, Brasil) bicarbonato de sódio e óxido de magnésio. O núcleo mineral-vitamínico foi composto por: hidróxido de tolueno butilado: 100mg/kg; cálcio: 270 mg/kg; enxofre: 25g/kg; fósforo: 50 g/kg; manganês: 945 mg/kg;

cobalto: 300 g/kg; flúor: 500 mg/kg; iodo: 70 mg/kg; selênio: 18 mg/kg; zinco: 1820 mg/kg; vitamina A: 200000 UI; vitamina D3: 40000 UI; vitamina E: 20 UI.

Foi usado o produto SMIZYME Multi-Enzyme for Ruminants (Beijing Smile Feed Sic. & Tech. Development Co., Ltd.), composto pelas enzimas: celulase, beta-glucanase e xilanase, cuja composição e níveis de garantia do produto são mínimos de 2.000, 300 e 20.000 u/g, respectivamente. A composição química das silagens e dos ingredientes dos concentrados, bem como a proporção dos ingredientes nas dietas, estão apresentados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2. Caracterização da composição química da ração completa, do sorgo forrageiro Volumax e dos ingredientes antes da ensilagem.

Item ^a	TMR ^b	Sorgo Volumax	Fubá de milho	Farelo de soja
pH	7,75	5,50	-	-
Matéria seca (g kg ⁻¹ MN)	414,26	273,38	874,44	878,61
Composição química (g kg ⁻¹ MS)				
Matéria mineral	63,20	54,86	13,10	67,52
Matéria orgânica	936,80	945,14	986,90	932,48
Proteína bruta	134,13	75,03	88,71	474,42
Extrato etéreo	0,76	1,44	3,75	0,83
Fibra em detergente neutro	385,86	640,33	131,53	139,43
FDN _{cp}	372,21	626,53	122,29	119,38
Fibra em detergente ácido	196,81	338,25	23,22	73,58
Populações microbianas (Log ufc g ⁻¹)				
Enterobactérias	6,76	6,76	-	-
Bactérias do ácido láctico	6,08	-	-	-
Leveduras	7,07	6,45	-	-
Fungos filamentosos	6,15	5,13	-	-

^aMN, Matéria natural; MS, Matéria seca, FDN_{cp}, Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; Log ufc g⁻¹, unidade logarítmica de unidades formadoras de colônia; ^bTMR, dieta completa antes da ensilagem.

Tabela 3. Proporção dos ingredientes, composição química das dietas experimentais e caracterização microbiológica das silagens.

Ingredientes ^a (% MS)	Dietas experimentais ^b		
	TMR-SE	TMR-EE	TMR-ET
Sorgo Volumax	40,00	40,00	40,00
Fubá de milho	46,01	46,01	46,01
Farelo de soja	8,59	8,59	8,59
Ureia/Sulfato de amônio (9:1)	1,0	1,0	10,0
Bicarbonato de sódio	1,0	1,0	10,0
Óxido de magnésio	0,4	0,4	0,4
Núcleo mineral-vitamínico ^c	3,0	3,0	3,0
Composição química das dietas (g kg ⁻¹ MS)			
Matéria seca (g kg ⁻¹ MN)	418,89	418,04	427,42
Matéria mineral	64,80	64,91	68,61
Matéria orgânica	935,20	934,70	931,39
Proteína bruta	135,11	144,12	140,39
Extrato etéreo	30,95	30,91	30,78
FDN _{cp}	296,88	280,57	262,20
Fibra em detergente neutro indigestível	97,37	89,56	95,50
Carboidratos não fibrosos	493,49	518,58	527,83
Nutrientes digestíveis totais	671,42	690,52	685,37
Carboidratos solúveis	32,58	36,01	44,16
pH	4,18	4,27	4,26
Populações microbianas (Log ufc/g forragem) ³			
Bactérias ácido lácticas	5,30	6,17	6,13
Leveduras	5,00	3,96	4,14
Fungos filamentosos	4,46	3,25	3,19

^aMS, Matéria seca; MN, Matéria natural; FDN_{cp}, Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; ^bTMR-SE, Silagem de TMR sem adição de enzimas exógenas; TMR-EE, silagem de TMR com enzimas exógenas aplicadas na ensilagem; TMR-ET, Silagem de TMR com enzimas exógenas aplicadas no momento do trato, ^cNúcleo mineral-vitamínico; ³Log ufc/g forragem, Unidade logarítmica de unidade formadora de colônia.

2.4. Uso e manejo dos animais

Os procedimentos para o uso e manejo dos animais utilizados neste estudo foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFV (CEUAP-UFV:112/2022). Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais de metal,

suspensas (0,70 m), com piso ripado e dimensões de 1,55 × 0,88 × 1,90 m (comprimento × largura × altura), dotadas de comedouro, bebedouro, em galpão coberto.

A higienização das gaiolas metabólicas foi realizada diariamente. Os animais foram pesados e vermifugados previamente ao início do período experimental. As pesagens foram realizadas no início e final do experimento para o cálculo do ganho médio diário de peso. Além disso, os animais foram pesados a cada 20 dias para monitoramento. A alimentação dos animais foi fornecida duas vezes ao dia (08:00 e 16:00h) *ad libitum*, a quantidade de dieta ofertada e de sobras de cada animal foram ajustadas diariamente, de forma a permitir sobras de 10%. Os animais tiveram acesso à água limpa e fresca em tempo integral.

2.5. Análises químicas, consumo, digestibilidade e desempenho animal

As coletas de alimento e pesagem do fornecido, sobras e fezes foram realizadas em três períodos durante a coleta de dados, com duração de cinco dias cada: 1ª coleta: 15º ao 20º dia; 2ª coleta: 35º ao 40º; 3ª coleta: 55º ao 60º dia. A coleta de fezes foi feita manualmente, diretamente no reto, duas vezes por dia, às 06:00 e às 17:00h. As amostras foram conservadas em freezer (-10 °C), para posterior confecção de uma amostra composta por animal, para cada período de coleta, que foram usadas para a realização das análises químicas e para a mensuração do consumo e da digestibilidade aparente dos nutrientes.

As amostras dos alimentos fornecidos, sobras e fezes, foram desidratadas em estufa com ventilação forçada, à 55 °C, por 72 h. Em seguida, as amostras foram moídas em tamanho de partícula de 1 mm para a realização das análises de MS (método 934.01), PB (método 984.13), EE (método 920.39), matéria mineral (MM, método 942.05) e FDA (método 973.18) de acordo com AOAC (1990), e 2 mm para análise de FDNi.

A análise de FDN das amostras foi realizada sem a utilização de sulfito de sódio e com a adição de α -amilase termoestável. O valor de FDN foi corrigido (FDN_{cp}) para as contaminações de cinzas (Mertens, 2002) e compostos nitrogenados (Licitra et al., 1996). O teor de MO foi obtido por diferença, conforme a fórmula: $MO = 100 - MM$.

O teor de carboidratos totais (CT) foi estimado de acordo com a metodologia proposta por Sniffen et al. (1992), seguindo a equação: $CT (\%) = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$, em que CT representa carboidratos totais; PB a proteína bruta; EE o extrato etéreo e MM a matéria mineral. Carboidratos não-fibrosos (CNF) foi estimado a partir da equação: $CNF (\%) = CT - FDN_{cp}$, em que FDN_{cp} corresponde à fração FDN livre de proteína e matéria mineral (Mertens, 2002), sendo este considerado como carboidratos fibrosos (CF).

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados segundo Weiss (1999), utilizando FDN e CNF corrigidos para cinza e proteína pela seguinte equação: $NDT: (\%) = PBD + FDN_{cpD} + CNF_{cpD} + (2,25 * EED)$. Em que: PBD: PB digestível; FDN_{cpD} : FDN_{cp} digestível; CNF_{cpD} : CNF_{cp} digestíveis e; EED: EE digestível. Os consumos de MS, MO, PB, EE, FDN_{cp} , CNF e NDT foram calculados pela diferença entre o oferecido e as sobras, mensurando o consumo em g/dia, em relação ao peso corporal médio dos animais.

Para estimativa da produção fecal foi utilizado o indicador interno FDN_i, obtido após incubação ruminal por 288 h (Valente et al., 2015) de 0,5 g de fornecidos, sobras e fezes, utilizando sacos confeccionado com tecido não tecido (TNT), gramatura 100 (100 g.²), 5 × 5 cm. O material remanescente da incubação foi submetido à extração com detergente neutro, para determinação da FDN_i.

O coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes foi calculado segundo equação proposta por Khan et al. (2003), através da seguinte fórmula: $CD = 100 - [(\% \text{ indicador no alimento} \times \text{nutriente nas fezes}) / (\% \text{ indicador nas fezes} \times \text{nutriente no alimento})] \times 100$, em que: CD é o coeficiente de digestibilidade do nutriente.

As pesagens dos animais no início e no final do experimento foram precedidas por jejum alimentar de 16 h. O GMD de peso dos animais foi determinado pela diferença entre o peso corporal inicial e peso corporal final, dividido pelo número total de dias de duração do período experimental. A conversão alimentar (CA) foi obtida pela relação entre o consumo de MS e o ganho de peso de todo o período experimental.

2.6. Caracterização das silagens

Durante cada período de avaliação experimental, foram amostrados três *bags* aleatórios de cada tratamento, para caracterização do perfil fermentativo das silagens, sendo realizado as análises de pH, e dos teores de carboidratos solúveis em água das silagens, que foram determinados segundo metodologia descrita por Nelson (1944).

Dessas amostras também foram preparadas alíquotas de extrato aquoso, que foram submetidas a diluições seriadas variando de 10^{-1} a 10^{-7} , para quantificação das populações microbianas, através do método *pour-plate*, em placas de Petri estéreis. A população de bactérias do ácido láctico (BAL) foi determinada em meio ágar MRS (Difco™ Lactobacilli MRS Agar) e incubadas a 37 °C por 48 h. O cultivo de enterobactérias foi realizado em VRB ágar (Violet Red Bile Agar) e incubadas a 37 °C por 24 h. Leveduras e fungos filamentosos foram cultivados em DRBC ágar (Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base Agar, Oxoid™, Hampshire, Inglaterra), a 25 °C por 72 e 120 h, respectivamente. As placas contendo entre 25

e 250 unidades formadoras de colônias (UFC) foram consideradas passíveis de contagem. Para avaliação e interpretação dos dados, os resultados obtidos foram convertidos para base logarítmica (Log10 UFC) (American Public Helth Association, 2015).

2.7. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando o procedimento GLM do programa estatístico *Statistical Analyses System - SAS 9.4* (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2010). As médias dos tratamentos foram comparadas utilizando-se o teste F, considerando-se $P \leq 0,05$ e $0,05 < P < 0,10$ para diferenças estatísticas e tendências, respectivamente. O modelo usado para analisar os efeitos individuais de cada tratamento foi:

$$Y_{ij} = m + t_i + b (P_{ij} - \bar{P}) + e_{ij}$$

Onde: Y_{ij} = variável resposta; m = média; t_i = efeito do tratamento; b = coeficiente de regressão P_i = efeito do peso animal; \bar{P} = peso médio animal; e_{ij} = erro experimental.

3. RESULTADOS

3.1. Consumo de nutrientes

Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$) sobre o consumo de nutrientes (Tabela 4), cujos valores médios dos consumos de MS, PB e NDT foram 1314,5; 184,6 e 890,4 g/dia, respectivamente.

Tabela 4. Consumo de nutrientes por cordeiros alimentados com silagens de ração em mistura total à base de sorgo forrageiro, com diferentes métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas exógena.

Item ^a	Dietas experimentais ^b			EPM ^c	P-valor ^d
	TMR-SE	TMR-EF	TMR-ET		
Consumo (g/dia)					
Matéria seca	1308,7	1313,2	1321,7	0,034	0,904
Matéria orgânica	1224,0	1231,9	1231,0	0,032	0,936
Proteína bruta	178,2	189,6	186,1	0,005	0,341
FDN _{cp}	370,3	378,3	340,6	0,010	0,117
FDN _i	126,2	116,6	125,7	0,003	0,234
Extrato etéreo	41,09	41,33	41,76	0,001	0,834
CNF	660,9	665,8	698,8	0,018	0,348
NDT	878,8	893,2	899,3	0,023	0,766

Consumo, % PC

Matéria seca	3,505	3,437	3,551	0,041	0,537
--------------	-------	-------	-------	-------	-------

^aFDNcp, Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDNi, Fibra em detergente neutro indigestível; CNF, Carboidratos não fibrosos; NDT, Nutrientes digestíveis totais; ^bTMR-SE, silagem de ração em mistura total sem enzimas exógenas; TMR-EE, silagem de ração em mistura total com enzimas exógenas; TMR-ET, silagem de ração em mistura total com enzimas fibrolíticas aplicadas no momento do trato; ^cEPM, Erro padrão da média; ^dP-valor, Probabilidade de efeito das enzimas exógenas.

3.2. Digestibilidade aparente total

As digestibilidades aparentes da MS, MO, PB, FDNcp, EE e CNF também não foram afetadas pelos tratamentos ($P > 0,05$), com médias de 652,59, 675,28, 634,93, 365,38, 885,79 e 836,70 g/kg MS, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Digestibilidade aparente total dos nutrientes em silagens de ração em mistura total à base de sorgo forrageiro, com diferentes métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas exógenas.

Item ^a (g/kg)	Dietas experimentais ^b			EPM ^c	P-valor ^d
	TMR-SE	TMR-EF	TMR-ET		
Matéria seca	646,48	652,00	658,68	0,71	0,8152
Matéria orgânica	670,80	674,30	680,75	0,67	0,8527
Proteína bruta	628,23	645,02	631,56	0,92	0,7594
FDNcp	360,03	386,60	349,51	1,48	0,6111
Extrato etéreo	889,20	881,06	887,11	0,55	0,8359
CNF	835,76	835,35	838,99	0,37	0,9350

^aFDNcp, Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; CNF, Carboidratos não fibrosos, ^bTMR-SE, silagem de ração em mistura total sem enzimas exógenas; TMR-EE, silagem de ração em mistura total com enzimas exógenas aplicadas na ensilagem; TMR-ET, Silagem de ração em mistura total com enzimas exógenas aplicadas no momento do trato; ^cEPM, Erro padrão da média; ^dP-valor, Probabilidade de efeito das enzimas exógenas.

3.3. Desempenho animal

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas exógenas sobre o GMD, GPT, CA e EA, com valores médios de 239,39 g/dia, 12,69 kg/dia, 5,56 e 182 g /kg MS consumida, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Desempenho de ovinos alimentados com silagem de ração em mistura total à base de sorgo forrageiro, em diferentes métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas exógenas.

Item ^a	Dietas experimentais ^b			EPM ^c	P-valor ^d
	TMR-SE	TMR-EE	TMR-ET		
Peso inicial (kg)	25,13	24,94	24,69	0,72	

Peso final (kg)	37,38	38,13	37,31	0,91	
GPT (kg)	12,25	13,19	12,63	0,42	0,664
GMD (g/dia)	231,1	244,8	238,2	0,01	0,661
CA	5,79	5,30	5,58	0,14	0,289
EA ^c	176,7	189,6	180,4	0,004	0,363

^aGPT, Ganho de peso total; GMD, Ganho médio diário; CA, Conversão alimentar; EA, Eficiência alimentar; ^bTMR-SE, Silagem de ração em mistura total sem enzimas exógenas; TMR-EE, silagem de ração em mistura total com enzimas exógenas aplicadas na ensilagem; TMR-ET, Silagem de ração em mistura total com enzimas exógenas aplicadas no momento do trato; ^cEPM, Erro padrão da média; ^dP-valor, Probabilidade de efeito das enzimas exógenas. ^eEA, g de ganho/kg matéria seca consumida.

4. DISCUSSÃO

As enzimas são catalizadoras, capazes de acelerar a velocidade das reações de hidrólises entre elas e o substrato, e por conseguinte, diminuir o tempo necessário para ocorrer essas reações químicas (Beauchemin et al., 2003). Entretanto, para verificar efeitos positivos de ENZF sobre o desempenho animal é necessário que estas atuem de forma efetiva, como exemplo, a celulase requer um pH de 5,0 a 6,5 e temperatura média de 39 °C a 50 °C (Kung Jr. et al., 2003; Chung et al., 2012; Bureenok et al., 2019), condições essas que possivelmente não ocorreram no presente estudo, em que o pH das silagens variou de 4,18 a 4,27, o que pode ter inibido a atividade enzimática.

Outro fator que pode explicar a ausência de efeito das ENZF sobre as variáveis de consumo, foi a baixa proporção de volumoso nas dietas (40:60), que possivelmente afetou a atuação das enzimas sobre a digestão dos nutrientes, tendo em vista que mais de 50% da MS total da dieta foi composta por alimentos concentrados, como o fubá de milho e farelo de soja, os quais possuem alta taxa de digestão (Subepang et al., 2019; Silva et al., 2020), indicando que a resposta à suplementação enzimática é altamente dependente da proporção de volumoso na dieta, ou seja, quanto maior sua proporção, maior será a probabilidade das enzimas atuarem sobre este substrato específico (Vicini et al., 2003).

Numericamente, o tratamento com aplicação de ENZF no momento da ensilagem (TMR-EE), demonstrou conteúdo de FDNi inferior, o que em tese poderia levar a um aumento do consumo de MS, porém, isso não foi verificado. A concentração de FDNi desempenha importante função na regulação do consumo e na digestibilidade da dieta de ruminantes, pois dietas com menor conteúdo de FDNi podem favorecer o aumento no consumo de MS (Harper

et al., 2014). É possível que a pequena diferença entre os teores de FDNi das dietas experimentais tenha contribuído para a não atuação da enzima.

Resultados semelhantes também foram observados por McAllister et al. (2000), em que a adição de ENZF não proporcionou aumento no consumo ou no GMD de cordeiros alimentados com dietas a base de cevada ou feno.

O alto teor de MS (média de 421,45 g/kg) das dietas também pode ter influenciado negativamente a ação das ENZF, o que provavelmente refletiu no seu consumo, pois segundo Beauchemin (2003), as enzimas são mais eficientes quando empregadas em alimentos com elevado teor de umidade, comparado com alimentos mais secos, pois a necessidade de água na hidrólise de polímeros complexos em açúcares solúveis é um princípio bioquímico fundamental.

Os consumos médios de PB de 184,63 g/dia e de NDT de 890,43 g/dia foram superiores aos recomendados pelo NRC (2007), de 130 g/dia e 725 g/dia para PB e NDT, respectivamente, para ganhos de 200 g/dia, em ovinos com peso semelhantes aos do presente estudo. Pode-se relacionar esse resultado aos ganhos em digestibilidade do amido, pelo processo de proteólise das prolaminas (zeínas e kafrinas), que envolvem os grânulos de amido presentes no milho e no sorgo, aumentando sua disponibilidade para atuação enzimática microbiana e do próprio animal (Silva et al., 2020).

Lopez-Aguirre et al. (2016), avaliando métodos de aplicação de enzimas fibrolíticas sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho de cordeiros alimentados com TMR, utilizando como volumoso o feno de capim-buffel, também não constataram efeito sobre o consumo de nutrientes, no entanto, observaram efeito sobre a digestibilidade da MS, FDN e no desempenho animal. Provavelmente, essas diferenças podem estar relacionadas com a forma de aplicação, tipo de mistura das enzimas e a taxa de aplicação (Mendoza et al., 2014; Li et al., 2018).

Os efeitos da adição de ENZF na ensilagem ou na ração de mistura total têm sido amplamente relatados na literatura, porém, contradições e inconsistências foram observadas em diferentes estudos, relativos aos seus efeitos no componente fermentativo, especialmente no desaparecimento da MS, FDN e na degradação da MO (Colombatto et al., 2004; Khota et al., 2016).

Os fatores que mais influenciam nas respostas de enzimas são o tipo, a especificidade, o método e a taxa de aplicação, além do tipo de forragem e composição da dieta (Dean et al., 2008; Jalilvand et al., 2008; Ribeiro et al., 2016; Li et al., 2018). A exemplo do consumo, a digestibilidade dos nutrientes também não foi afetada pela enzima, embora seja reconhecido

que as enzimas podem agir diretamente sobre a fibra, proporcionando aumento da degradação da MS e da FDN no rúmen (Hristov et al., 2000). A redução no teor de fibras é uma das características mais importantes do seu uso, o que poderia proporcionar aumento das digestibilidades da MS e FDN (McDonald et al., 1991; Muck & Kung Jr., 1997; Zilio et al., 2019).

Provavelmente, a falta de efeito das enzimas, bem como de sua forma de aplicação sobre o consumo e digestibilidade da fração fibrosa das dietas se deve a instabilidade ruminal das enzimas, a baixa interação substrato-enzima e a alta taxa de passagem do alimento, que proporcionaram esse resultado ineficaz das enzimas (Wang e McAllister, 2002).

Outra explicação para ausência de efeito sobre a digestibilidade da MS e da FDN, pode ter sido a aplicação das ENZF na ração da mistura total e não exclusivamente apenas no volumoso, visto que o volumoso tem maior teor de fibra, podendo assim proporcionar uma ação mais eficiente das ENZF (Tirado-González et al. 2018).

Em estudo com ovinos, Yang et al. (2000) verificaram que a digestibilidade de dietas a base de silagem de milho, feno de alfafa e concentrado, não foi afetada pela suplementação enzimática. Os autores argumentaram que o método de aplicação das enzimas deve ser considerado para maximizar seus benefícios sobre as dietas, pois quando a digestão do alimento é naturalmente alta, não há melhoria na digestibilidade da MS.

A escolha do método de aplicação das enzimas fibrolíticas, impacta diretamente no resultado da ação das mesmas, surgindo assim a necessidade de determinar se as enzimas fibrolíticas são mais efetivas quando aplicadas diretamente na forragem, no concentrado ou na mistura total da ração ensilada na forma de TMR ou na mistura no momento do trato dos animais (Yang et al., 1999).

A ausência de efeito das enzimas sobre o desempenho dos animais, reflete o consumo de nutrientes similar entre as dietas. Existem evidências de que em dietas com maior participação de grãos, principalmente quando se utiliza grãos de milho e soja, a aplicação de enzimas não proporciona efeito no desempenho dos animais, uma vez que a energia não se constitui o nutriente limitante (Beauchemin et al., 2003). Resultados semelhantes foram reportados por Rojo et al. (2005), Miller et al., (2008) e Awawdeh e Obeidat, (2011).

Tirado-González et al. (2018), avaliando métodos meta-analíticos para estimar os efeitos da adição de enzimas fibrolíticas exógenas (EFE), em dietas com baixo e alto teor de forragem, observaram que a suplementação de EFE em ovinos não teve efeitos sobre o consumo de nutrientes, ganho médio diário e na conversão alimentar.

Os resultados positivos sobre o desempenho animal têm sido inconsistentes e variáveis, pois inúmeros fatores contribuem para que ocorra essa variabilidade na resposta final da enzima, incluindo a composição, taxa de inclusão e método de aplicação, tempo de inclusão (imediatamente antes da alimentação ou pré-incubação), condição experimental (composição da dieta e grau de energia limitante na dieta basal), e o nível de produção dos animais (Beauchemin et al., 2003).

A busca por uma maior consistência dos resultados deve levar em consideração o conhecimento sobre a interação enzima-substrato dentro do silo e também, dentro do ecossistema ruminal, os componentes que compõem a parede celular das plantas e o tipo de ENZF que está sendo aplicada (Beauchemin, et al., 2004; Meale et al., 2014).

5. CONCLUSÕES

A adição de enzimas fibrolíticas exógenas em silagem de sorgo na forma de TMR, na ocasião da ensilagem ou no momento de alimentação dos animais não altera o consumo, nem a digestibilidade dos nutrientes.

REFERÊNCIAS

- Abid, K.; Jabri, J.; Ammar, H.; Said, S. B.; Yaich, H.; Malek, A.; Lopez, S.; Kamoun, M. Effect of treating olive cake with fibrolytic enzymes on feed intake, digestibility and performance in growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, 261, 114405. 2020.
- Adesogan A. T.; Arriola, K. G.; Oyebade, A.; Paula, E. M.; Pech-Cervantes, A. A. Romero, J. J.; Ferrarett, L. F.; Vyas, D. Symposium review: technologies for improving fiber utilization. **Journal of Dairy Science**. 102(6): 5726–5755. 2019.
- Adesogan, A. T.; Kim, S. C.; Arriola, K. G.; Dean, D. B.; Staples, C. R. Strategic addition of dietary fibrolytic enzymes for improved performance of lactating dairy cows. In: **Proceedings** of 18th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium (pp. 30-31). 2007.
- Allen, M. S. Control of feed intake by hepatic oxidation in ruminant animals: integration of homeostasis and homeorhesis. **Animal**, 14(S1), s55-s64. 2020.
- American Public Health Association. 2015. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5th ed. (Y. Salfinger and M. Lou Tortorello, editors.). American Public Health Association (APHA), Washington, DC, USA.
- Arriola, K. G.; Oliveira, A. S.; Ma Z. X.; Lean, I.J.; Giurcanu, M. C.; Adesogan, A. T. A meta-analysis on the effect of dietary application of exogenous fibrolytic enzymes on the performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.6, p. 4513–4527, 2017.

- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 15th ed. AOAC International, Arlington. 1990.
- Awawdeh, M. S.; Obeidat, B. S. Effect of supplemental exogenous enzymes on performance of finishing Awassi lambs fed olive cake-containing diets. **Livestock Science**. 138:20–24. 2011.
- Beauchemin, K. A.; Colombatto, D.; Morgavi, D. P.; Yang, W. Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 37–47, 2003.
- Beauchemin, K. A.; Colombatto, D.; Morgavi, D. P. A rationale for the development of feed enzyme products for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**. 84:24–36. 2004.
- Beauchemin, K. A.; Rode, L. M.; Maekawa, M.; Morgavi, D. P.; Kampen, R. Evaluation of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal Dairy Science**. 83, 543–553. 2000.
- Bowman, G R.; Beauchemin, K. A.; Shelford, J. A. Fibrolytic enzymes and parity effects on feeding behavior, salivation and ruminal pH of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.565-575, 2003.
- Bueno, A. V. I.; Lazzari, G.; Jobim, C. C.; Daniel, J. L. P., 2020. Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. **Agronomy** 10, 1–18.
- Bureenok, S.; Langsoumechai, S.; Pitiwittayakul, N.; Yuangklang, C.; Vasupen, K.; Saenmahayak, B.; Schonewille, J. T. Effects of fibrolytic enzymes and lactic acid bacteria on fermentation quality and in vitro digestibility of Napier grass silage. **Italian Journal of Animal Science**, 18(1), 1438-1444. 2019.
- Bravin, T. P.; da Silva, G. H. L.; Ziemniczak, H. M.; Ferreira, E.; Pazdiora, R. D.; Saturnino, K. C. Suplementação em novilhas nelore no período de transição seco e das águas. **Agrarian**, 13(47), 93-99. 2020.
- Chung, Y. H.; Zhou, M.; Holtshausen, L.; Alexander, T. W.; McAllister, T. A.; Guan, L. L.; Oba, M.; Beauchemin, K. A. A fibrolytic enzyme additive for lactating Holstein cow diets: ruminal fermentation, rumen microbial populations, and enteric methane emissions. **Journal of dairy science**, 95(3), 1419-1427. 2012.
- Coelho, A. M. Nutrição e adubação do milho. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHAES, P. C. (Ed.). **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. p.131-157.
- Colombatto, D.; Mould, F. L.; Bhat, M. K.; Phipps, R. H.; Owen, E. In vitro evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage. I. Effects of ensiling temperatura, enzyme source and addition level or thermophilic sources. **Animal Feed Science and Technology**, v. 111, p. 111-128, 2004.
- Dean, D. B.; Adesogan, A. T.; Krueger, N. A.; Littell, R. C. Effects of treatment with ammonia or fibrolytic enzymes on chemical composition and ruminal degradability of hays produced from tropical grasses. **Animal Feed Science and Technology**, 145(1-4), 68-83. 2008.

- Dean, D. B.; Adesogan, A. T.; Staples, C. R.; Littell, R. C.; Kim, S. C. Effect of Adding a Fibrolytic Enzyme to Different Components of a Dairy Cow Diet on Feed Intake, Digestibility, Milk Production, Ruminal Fermentation, and Blood Metabolites. **Journal Dairy Science**. 2007.
- El-Bordeny, N. E.; Abedo, A. A.; El-Sayed, H. M.; Daoud, E. N.; Soliman, H. S.; Mahmoud, A. E. M. Effect of exogenous fibrolytic enzyme application on productive response of dairy cows at different lactation stages. **Asian Journal Animal Veterinary Advances**. 10, 226–236. 2015.
- Evangelista, A. R.; Tavares, V. B. 2009. **FORAGEIRAS – Formação e Utilização**. FAEPE, Lavras, Minas Gerais. 168p.
- Fang, J.; Xia, G.; Cao, Y. Effects of replacing commercial material with apple pomace on the fermentation quality of total mixed ration silage and its digestibility, nitrogen balance and rumen fermentation in wethers. **Grassland Science**. 66, 124–131. 2020.
- Gusmão, J. O.; Danés, M. A. C.; Casagrande, D. R.; Bernardes, T. F. Total mixed ration silage containing elephant grass for small-scale dairy farms. **Grass Forage Science**. 73, 717–726. 2018.
- Harper, K. J.; Barber, D.; Callow, M.; McNeill, D. M.; Poppi, D. P. Assessment of the iNDF of Subtropical Pastures. **Animal Production in Australia**, 30, 320-320. 2014.
- 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. **Journal of Animal Science**, v.78, p.477- 487, 2000.
- Jalilvand, G.; Naserian, A.; Kebreab, E.; Odongo, N. E.; Valizadeh, R.; Shahroodi, F. E., Lopez, S.; France, J. Rumen degradation kinetics of alfalfa hay, maize silage and wheat straw treated with fibrolytic enzymes. **Archivos de zootecnia**, 57(218), 155-164. 2008.
- Khan, M. A.; Nisa, M.U.; Sarwar, M. Techniques measuring digestibility for the nutritional evaluation of feeds. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.5, n.5, p.91-94, 2003.
- Köppen, W. Klassifikation der Klimate nach Tempetarur, Niederschlag und Jahreslauf. **Petermanns Geographische Mitteilungen**. 64, 193–203. 1918.
- Khota, W.; S. Pholsen.; D. Higgs.; Y. CAI. Natural lactic acid bacteria population of tropical grasses and their fermentation factor analysis of silage prepared with cellulase and inoculant. **Journal Dairy Science**. 99:9768–9781. 2016.
- Kung, 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**. 83, 115–122. 2000.
- Kung Júnior, L.; Stokes, M. R.; Lin, C. J. Silage additives. **Silage science and technology**, 42, 305-360. 2003.
- Lazzari, G.; Poppi, A. C. O.; Machado, J.; Bueno, A. V. I.; Gomes, A. L. M.; Jobim, C. C.; Daniel, J. L. P. Effects of protein source and lipid supplementation on conservation and

- feed value of total mixed ration silages for finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**. 99, 1–13. 2021.
- Licitra, G.; Hernandez, T. M.; Van Soest., P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**. v. 57, p. 347-358, 1996.
- Li, J.; Yuan, X.; Dong, Z.; Mugabe, W.; Shao, T. The effects of fibrolytic enzymes cellulolytic fungi and bacteria on the fermentation characteristics, structural carbohydrates degradation, and enzymatic conversion yields of *Pennisetum sinense* silage, **Bioresource Technology**. 2018.
- Lopez-Aguirre, D.; Hernandez-Melendez, J.; Rojo, R.; Sanchez-Davila, F., Lopez-Villalobos, N.; Salem, A. Z. M.; Martinez-Gonzalez, J. C.; Vazquez-Armijo, J. F.; Ruiz, S., Effects of exogenous enzymes and application method on nutrient intake, digestibility and growth performance of Pelibuey lambs. **Springerplus**. 5, 1399. 2016.
- Meale, S. J.; Beauchemin, K. A.; Hristov, A. N.; Chaves, A. V.; McAllister, T. A. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. **Journal Animal Science**. 92, 427–442. 2014.
- Mendoza, G. D.; Loera-Corral, O.; Plata-Perez, F. X.; Hernandez-Garcia, P. A.; Ramirez-Mella, M., 2014. Considerations on the use of exogenous fibrolytic enzymes to improve forage utilization. **The Science World Journal**., 1–9. 2014.
- Mertens, D. R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**. v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.
- McAllister, T. A.; Stanford, K.; Bae, H. D.; Treacher, R. J.; Hristov, A. N.; Baah, J.; Shelford, J. A.; Cheng, K. J. Effect of a surfactant and exogenous enzymes on digestibility of feed and on growth performance and carcass traits of lambs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.80, p.35-44, 2000.
- McAllister, T. A.; Oosting, S. J.; Popp, J. D.; Mir, Z., Yanke, L. J., Hristov, A. N.; Treacher, R. J.; Cheng, K. -J., Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**. 79, 353–360. 1999.
- McDonald, P.; Henderson, N.; Heron, S. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Bucks: Chalcombe Publications, 1991. 340p.
- Miller, D. R.; Elliott, R.; Norton, B. W. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2, on intake, digestion and utilisation of sorghum and barley grain-based diets by beef steers. **Animal Feed Science Technology**. 145:159–181. 2008.
- Muck, R. E.; Kung Jr., L. Effects of silages additives on ensiling. In: THE SILAGE: FIELD TO FEED BUNK NORTH AMERICAN CONFERENCE, Hershey. **Proceedings...** Hershey: National Regional Agricultural Engineering Service. 1997. p.187-199. 1997.
- National Research Council (NRC). **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington, D.C.: National Academic, p. 292, 2007.

- Nelson, N. A. Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose. **Journal of Biological Chemistry**, 153(2), 375–380.
- Paziani, S. D. F.; Duarte, A. P.; Nussio, L. G.; Gallo, P. B.; Bittar, C. M. M.; Zopollatto, M.; Reco, P. C. Características agronômicas e bromatológicas de híbridos de milho para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 3, p. 411-417, mar. 2009.
- Perazzo, A. F.; Carvalho, G. P. G.; Santos, E. M.; Bezerra, F. C. H.; Silva, T. C.; Pereira, G. A.; Ramos, R. C. S.; Rodrigues, J. A. Agronomic evaluation of sorghum hybrids for silage production cultivated in semiarid conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1088, 2017.
- Restelatto, R.; Novinski, C. O.; Pereira, L. M.; Silva, E. P. A.; Volpi, D., Zopollatto, M., Schmidt, P., Faciola, A. P. Chemical composition, fermentative losses, and microbial counts of total mixed ration silages inoculated with different *Lactobacillus* species. **Journal of Animal Science**. 97, 1634–1644. 2019.
- Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; Viana, V. H. A. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5º Aproximação**. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. 1999.
- Ribeiro, G. O.; Swift, M. L.; McAllister, T. A. Effect of diastatic power and processing index on the feed value of barley grain for finishing feedlot cattle. **Journal Animal Science**. 2016 Aug;94(8):3370-3381.
- Rojo, R.; Mendoza, G. D.; González, S. S.; Landois, L.; Bárcena, R. Crosby, M. Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. **Animal Feed Science Technology** 123–124:655–665. 2005.
- Romero, J. J.; Zarate, M. A.; Arriola, K. G.; Gonzalez, C. F.; Silva-Sanchez, C.; Staples, C. R.; Adesogan, A. T. Screening exogenous fibrolytic enzyme preparations for improved in vitro digestibility of bermudagrass haylage. **Journal of Dairy Science**. 98:2555–2567. 2015.
- SAS Institute Inc., Cary, NC, U. **Statistical Analysis Systems User's Guide** (9.4). SAS Institute, Inc, 2010.
- Schingoethe, D. J.; Stegeman, G. A.; Treacher, R. J. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. **Journal of Dairy Science**. 82, 996–1003. 1999.
- Silva, B. D. C.; Pacheco, M. V. C.; Godoi, L. A.; Alhadas, H. M.; Pereira, J. M. V.; Renno, L. N.; Detmann, E.; Paulino, P. V. R.; Shoonmaker, J. P. Valadares Filho, S. D. C. Reconstituted and ensiled corn or sorghum grain: Impacts on dietary nitrogen fractions, intake, and digestion sites in young Nelore bulls. **Plos one**, 15(8), e0237381. 2020.
- Sniffen, C.J.; O'Connor, J. D.; Van Soest, P. J.; Fox, D. G.; Russel, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

- Subepang, S.; Suzuki, T.; Phonbumrung, T.; Sommart, K. Enteric methane emissions, energy partitioning, and energetic efficiency of zebu beef cattle fed total mixed ration silage. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 32(4), 548. 2019.
- Tirado-Gonzalez, D. N.; Miranda-Romero, L. A.; Ruíz-Flores, A.; Medina-Cuéllar, S. E.; Ramírez-Valverde, R.; Tirado-Estrada, G. Meta-analysis: effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. **Journal of Applied Animal Reserach**, 46:1, 771-783. 2018.
- Valente, T. N. P.; Detmann, E.; Sampaio C. B.; Review: Recent advances in evaluation of bags made from different textiles used in situ ruminal degradation. **Canadian Journal Animal Science**. 95(4), 493 - 498. 2015.
- Vicini, J. L.; Bateman, H. G.; Bhat, M. K.; Clark, J. H.; Erdman, R. A.; Phipps, R. H.; Van Amburgh, M. E.; Hartnell, G.F.; Hintz, R.L.; Hard, D. L. Effect of feeding supplemental fibrolytic enzymes or soluble sugars with malic acid on milk production. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.576-585, 2003.
- Wang Y.; McAllister T. A. Rumen microbes, enzymes and feed digestion—A review. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, 15: 1659– 1676. 2002.
- Weinberg, Z. G.; Muck, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v.19, p.53-68, 1996.
- Weiss, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: Cornell Nutrition Conference For Feed Manufacturers, **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999.
- Woolford, M.K. **The silage fermentation** New York: Marcel Dekker, 1984. 322p.
- Yang, W. Z.; Beauchemin, K. A.; Rode, L. M. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.2, p.391-403, 1999.
- Yang, W. Z.; Beachemin, K. A.; Rode, L. M. A Comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. **Journal of Animal Science**, v.83, p.2512- 2520, 2000.
- Yang Y.; Ferreira G.; Corl B. A.; Campbell B. T. Production performance, nutrient digestibility, and milk fatty acid profile of lactating dairy cows fed corn silage- or sorghum silage-based diets with and without xylanase supplementation. **Journal do Dairy Science.**, 102: 2266-2274. 2019.
- Zilio, E. M. C.; Del Valle, T. A.; Ghizzi, L. G; Takiya, C. S.; Dias, M. S. S.; Nunes, A. T.; Silva, G. G.; Rennó, F. P. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Brasil, v.102, p.1–11, 2019.

CONCLUSÕES GERAIS

O uso do blend enzimático em silagem de sorgo AGRI 002E influencia o perfil fermentativo e a composição química, proporcionando menores valores dos componentes fibrosos e maiores valores da fração potencialmente digestível e da degradabilidade potencial da MS. Assim, recomenda-se a adição de 9 g/kg MS de BENZ, por ocasião da ensilagem de sorgo biomassa. No entanto, a adição de enzimas fibrolíticas exógenas em silagem de sorgo na forma de TMR, na ocasião da ensilagem ou no momento de alimentação dos animais não altera o consumo, nem a digestibilidade dos nutrientes.