UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

VALOR NUTRITIVO DO RESÍDUO DE ALGODOEIRA TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS

Autor: Alexandro Pereira Andrade
Orientador: D.M.V. Prof. Mauro Pereira de Figueiredo

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Março de 2015

ALEXANDRO PEREIRA ANDRADE

VALOR NUTRITIVO DO RESÍDUO DE ALGODOEIRA TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. D.M.V. Mauro Pereira de Figueiredo

Co-orientadores: Prof. D.Sc. Joel Queiroga Ferreira
Prof. D.Sc. Danilo Gusmão de Quadros

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Março de 2015

636.085 Andrade, Alexandro Pereira
A565v Valor nutritivo do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas. / Alexandro Pereira Andrade - Itapetinga: UESB, 2015.
119f.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB – Campus de Itapetinga. Sob a orientação do Prof. D.M.V. Mauro Pereira de Figueiredo e co-orientação do Prof. D.Sc. Joel Queiroga Ferreira e do Prof. D.Sc. Danilo Gusmão de Quadros.

1. Tratamento volumoso – Ureia. 2. Tratamento enzimático – Enzimas fibrolíticas. 3. Nutrição – Degradação ruminal – Desempenho animal. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, C*ampus* de Itapetinga. II. Figueiredo, Mauro Pereira de. III. Ferreira, Joel Queiroga. IV. Quadros, Danilo Gusmão. V. Título.

CDD(21): 636.085

Catalogação na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Tratamento volumoso – Ureia
2. Tratamento enzimático – Enzimas fibrolíticas
3. Nutrição – Degradação ruminal – Desempenho animal

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-*BA*

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "Valor nutritivo do resíduo de algodoeira tratado com uréia e enzimas fibrolíticas".

Autor (a): Alexandro Pereira Andrade
Orientador (a): Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo
Co-orientador (a): Prof. Dr. Joel Queiroga Ferreira
Prof. Dr. Danilo Gusmão de Quadros

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:

Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo – UESB

Prof. Dr. José Augusto Gomes Azevêdo – UESC

Prof. Dr. Aureliano José Vieira Pires - UESB

Prof. Dr. Joel Queiroga Ferreira – UESB

Drª. Ana Paula Gomes da Silva – PNPD/UESB

Data de realização: 11 de março de 2015.

“Não quero ter a terrível limitação de quem vive apenas do que é possível...
hoje consegui o impossível”

Ao

meu pai e à minha mãe que
foram o início de tudo

Aos

meus irmãos e irmãs,
pelo estímulo

Aos

meus mestres,
pelos ensinamentos e
orientações

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, por sempre cuidarem de mim, ao Espírito Santo, por iluminar meu caminho, ao meu anjo da guarda, por sempre estar ao meu lado me protegendo. Dessa forma nunca me senti sozinho!!!

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por ter me possibilitado desenvolver este trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, com concentração em Produção de Ruminantes, pela acolhida e oportunidade de realização de mais uma etapa da minha formação profissional.

A Fundação de amparo à pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao CNPq e UESB por terem concedido financiamento desse projeto.

Ao Professor Dr. Mauro Pereira de Figueiredo por ter acreditado em mim, aceitando orientar-me, tendo o privilégio ser seu orientado. Jamais esquecerei suas palavras e incentivo pela busca constante da aprendizagem, sempre as levarei comigo.

Ao Professor Dr. Danilo Gusmão de Quadros por ter acreditado e possibilitado mais uma vez meu crescimento profissional e pessoal. Obrigado pelo aceite de co-orientação nessa etapa.

Ao Professor Dr. Joel Queiroga Ferreira pela contribuição efetiva e co-orientação deste trabalho, e pelo auxílio na qualificação.

Aos Professores Drs. Mauro Figueiredo, José Augusto, Márcio Pedreira, Fabiano Ferreira, Robério Rodrigues, Herymá Giovane, Fábio Andrade e Gleidson Carvalho, pelos ensinamentos transmitidos durante as disciplinas que cursei no programa.

Aos Professores Dr. Aureliano José Vieira Pires, Paulo Bonomo e Mara Lúcia Albuquerque por terem contribuído muito com essa tese pelas sugestões oferecidas e pelas análises estatísticas na qualificação, agradeço-os imensamente por tudo.

Aos amigos e colegas de pós-graduação, Yann, Flávio, George, Tiago, Hermógenes, Pablo, Edileusa, Ádler, Jeruzia e Cleia, pela amizade.

Aos colegas do LNA, Eduardo Novaes, João Paulo, Rafael Rivas, Neri Jean, Tâmara, Egídio “Padre”, Pablo Viana, Cleia, Jennifer, Mateus, Dreice, Renan, Ravane, Marleide e Vera pela amizade e parceria em todos os momentos;

Aos funcionários do setor experimental Almir, Daniel e Júnior, colaboradores imprescindíveis, bem como aos funcionários da DICAP- UESB-VC, especialmente, Ailton, Valmir, Roberto, Rita e Dui, sem os quais a realização do ensaio com os animas seria muito mais difícil;

Ao senhor Newton Guimarães Pereira – Faz. Nova Luz, pela confiança e empréstimo dos animais, sem os quais a realização do ensaio de desempenho animal não seria possível;

Enfim, a todos do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, os meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

ALEXANDRO PEREIRA ANDRADE, filho de João Evangelista Meira Andrade e Eunice Pereira Andrade, nasceu em 11 de janeiro de 1982, em Livramento de Nossa Senhora, Bahia.

Em abril de 2002, iniciou o curso de Agronomia na Universidade do Estado da Bahia, Barreiras – Bahia, tendo sua conclusão em setembro de 2008.

Em março de 2009, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Federal da Paraíba, realizando estudos na área de Forragicultura. Concluiu o curso de mestrado, defendendo no dia 24 de fevereiro de 2011.

Em março de 2011, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção em Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, realizando estudos na área de Nutrição Animal.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS viii
LISTA DE TABELAS ix
QUADROS DO APÊNDICE xi
QUADROS DO ANEXO..... xii
RESUMO GERAL xiii
ABSTRACT xv
I – REFERENCIAL TEÓRICO 01
1.1. Referências Bibliográficas 07
II – OBJETIVOS GERAIS 11
III – CAPÍTULO I – COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DO RESÍDUO DE ALGODOEIRAS TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS..... 12
Resumo 12
Abstract 13
Introdução 14
Material e Métodos 16
Resultados e Discussão 21
Conclusões 33
Referências Bibliográficas 34
IV – CAPÍTULO II – DEGRADABILIDADE E CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO*, DO RESÍDUO DE ALGODOEIRA TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS..... 40
Resumo 40
Abstract 41
Introdução 42
Material e Métodos 44
Resultados e Discussão 48
Conclusões 62

Referências Bibliográficas 63
V – CAPÍTULO III – CONSUMO, DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E DESEMPENHO DE OVINO ALIMENTADOS COM RESÍDUO DE ALGODOEIRA TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS 68
Resumo 68
Abstract 69
Introdução 70
Material e Métodos 71
Resultados e Discussão 75
Conclusões 84
Referências Bibliográficas 85
VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS 88
VII – APÊNDICES 89
Apêndice A 90
Apêndice B 92
VIII – ANEXOS 94
Anexo A 95
Anexo B 98
Anexo C 99

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1. Curva de produção cumulativa de gases provenientes dos carboidratos não fibrosos, do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 51
FIGURA 2. Curva de produção cumulativa de gases provenientes dos carboidratos fibrosos, do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolítica..... 51
FIGURA 3. Curvas de produção cumulativa de gases do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 53
FIGURA 4. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da matéria seca do resíduo de varredura de algodoeiras tratada com ureia e enzimas fibrolíticas.. 57
FIGURA 5. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas..... 59
FIGURA 6. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da fibra em detergente ácido do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas..... 61

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. Composição químico-bromatológica e digestibilidade verdadeira in vitro do resíduo de varredura de algodoeira *in natura*..... 16

TABELA 2. Valores médios da matéria seca, cinzas, e extrato etéreo do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.. 21

TABELA 3. Valores médios dos componentes da parede celular do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 23

TABELA 4. Fracionamento dos componentes nitrogenados do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 25

TABELA 5. Fracionamento dos carboidratos do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 27

TABELA 6. Teores médios de nutrientes digestíveis totais (NDT em %MS), energia digestível (ED), energia metabolizável (EM), energia líquida de mantença (ELm), energia líquida de ganho (ELg) e energia líquida de lactação (EL_{lact}) em Mcal/Kg de MS do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 29

TABELA 7. Valores médios da digestibilidade in vitro da matéria seca do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.. 31

TABELA 8. Estimativas dos parâmetros cinéticos da produção de gases *in vitro* da matéria seca (MS) do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 48

TABELA 9. Produções cumulativas de gases (PCG), biomassa microbiana (BIO), fator de partição (FP) e matéria orgânica verdadeiramente digestível (MOVd), do resíduo de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 52

TABELA 10. Parâmetros médios da degradabilidade ruminal *in vitro* da matéria seca do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas..... 54

TABELA 11. Parâmetros médios da degradabilidade ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas..... 58

TABELA 12. Parâmetros médios da degradabilidade ruminal *in vitro* da fibra em detergente ácido do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 60

TABELA 13. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas à base de resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas..... 73

TABELA 14. Consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB) e extrato etéreo (CEE) de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso..... 75

TABELA 15. Consumo de FDN (CFDN), FDA (CFDA), carboidratos fibrosos (CCF), carboidratos não fibrosos (CCNF) e NDT (CNDT) de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso..... 77
TABELA 16. Valores médios da digestibilidade aparente dos nutrientes de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratadas com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso..... 79
TABELA 17. Desempenho de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso..... 82

QUADROS DO APÊNDICE

Página

TABELA 1A. Máquina de limpeza e separação dos componentes do algodão.....90
TABELA 2A. Coleta dos componentes do resíduo de algodoeira.....90
TABELA 3A. Acúmulo do resíduo no pátio das algodoeiras.....91
TABELA 1B. Animais alimentando nas baias experimentais..... 92
TABELA 2B. Coleta de fezes para OPG.....93
TABELA 3B. Aplicação de vermífugo nos animais.....93

QUADROS DO ANEXO

Página

ANEXO A. Metodologia utilizada para avaliação da eficácia da ação das enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas em ensaios padrão para determinação da atividade enzimática sobre carboximetilcelulose e xilana..... 95
ANEXO B. Programação SAS para o modelo não linear da degradabilidade da MS..... 98
ANEXO C. Programação SAS para o modelo não linear da produção de gases *in vitro*..... 99

RESUMO GERAL

ANDRADE, ALEXANDRO PEREIRA. **Valor nutritivo do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.** Itapetinga, BA: UESB, 2015. 119 p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*[1]

Objetivou-se avaliar os efeitos do tratamento com ureia e enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira sobre a composição bromatológica, fracionamento dos carboidratos e nitrogênio e estimativas do conteúdo energético do resíduo de varredura das algodoeiras; avaliar a degradabilidade da matéria seca e fração fibrosa e cinética da fermentação ruminal, por meio da técnica semiautomática *in vitro* de produção de gases em função do tratamento com ureia e enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira; e quantificar os efeitos de dietas formuladas com resíduo de algodoeiras tratado com ureia e níveis de enzimas fibrolíticas sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes e desempenho animal em cordeiros confinados. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com duas doses de ureia (0 e 6%) e quatro doses de enzimas (0, 2, 4 e 6%), com base na MS, com quatro repetições. Para o tratamento químico, a ureia foi dissolvida em água e calculada a quantidade de água para elevar a umidade do material para 25%. A mistura de enzimas fibrolíticas foi composta de 75% de celulase e 25% de hemicelulase. Foi determinada a composição bromatológica. Na avaliação da produção de gases, a pressão foi mensurada às 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação. Para avaliar a degradabilidade ruminal da matéria seca e fração fibrosa, o material foi incubado em sacos de filtro F57, utilizando uma incubadora, nos tempos 0 (lavagem direta), 6, 12, 24, 48, 96 e 120 horas. No ensaio a campo, foram utilizados 30 cordeiros da raça Santa Inês, com peso médio de 20 kg. Foi utilizado o resíduo de algodoeira, pré-tratado com 6% de uréia e quatros níveis de enzimas fibrolíticas (0, 2, 4 e 6%, base na matéria seca) (75% celulase e 25% hemicelulase) além de um tratamento controle sem adição de ureia e enzimas. Foram utilizadas dietas isonitrogenadas e isoenergéticas, que continham o

[1] Adviser: Mauro Pereira de Figueiredo, Dr. UESB and Co-adviser: Joel Queiroga Ferreira, Dr. UESB e Danilo Gusmão de Quadros, Dr. UNEB.

resíduo de algodoeira (como único volumoso), milho, farelo de soja e minerais no concentrado, em uma relação volumoso: concentrado de 50:50. Os resultados dos componentes da parede celular apresentaram interação entre ureia e enzimas somente para os teores de Fibra em Detergente Ácido. Os efeitos do tratamento enzimático obteve um efeito linear negativo para todos os parâmetros avaliados da parede celular, refletindo no aumento da parede celular. Para os resultados da fração do nitrogênio, houve efeito da interação entre as doses de ureia e enzimas fibrolíticas para as variáveis de nitrogênio total (NT) e nas frações A e C. Na fração dos carboidratos houve interação entre as doses de ureia e de enzimas para os carboidratos totais e carboidratos não fibrosos. O volume máximo de produção de gases da fase rápida (Vf1) diferiu para os tratamentos com amonização com e sem uréia. Os resultados dos parâmetros da degradabilidade ruminal da MS não apresentaram interação para nenhum parâmetro. As frações “b” e “c” observou-se aumento com adição de ureia, mas houve redução para a degradabilidade efetiva a 5 e 8%/h com a adição de ureia. O consumo obtiveram as médias MS (1311,4), MO (1189,9), PB (254,1), EE (44,1), FDN (748,9), FDA (487,9), CF(670,4) e NDT (810,0) g/dia. Nos resultados da digestibilidade aparente dos nutrientes da proteína bruta e extrato etéreo não apresentaram diferenças entre os tratamentos enzimáticos e a dieta controle, nem entre os níveis de enzimas no tratamento do resíduo de algodoeira, enquanto que os demais apresentaram efeito significativo. Em relação aos níveis de enzimas utilizados, houve aumento linear para digestibilidade da MS, MO, CNF e NDT, de 1,7; 1,3; 1,2 e 1,2 unidades percentuais para cada 1% de enzima aplicada, e redução da digestibilidade da FDN, FDA e CF de 0,3; 0,5 e 0,4 unidades percentuais para cada 1% de enzima aplicada, respectivamente. Os valores médios dos tratamentos com as enzimas fibrolíticas não apresentaram efeito, frente aos animais do grupo controle, sobre os dados de desempenho avaliados. A ação simultânea da ureia e enzimas fibrolíticas atua eficazmente na melhoria do valor nutritivo do resíduo de algodoeira, refletindo-se em melhores resultados nas análises laboratoriais. Também na avaliação com os animais, a digestibilidade aparente dos nutrientes apresentou efeito positivo das enzimas fibrolíticas. Portanto, a utilização de 6% de ureia e 6% de enzimas, atua eficiente para a melhoria do valor nutricional do resíduo de algodoeira.

Palavras-chave: celulase, degradação ruminal, ruminantes, tratamento de volumoso.

ABSTRACT

ANDRADE, ALEXANDRO PEREIRA. **Nutritional value of cotton industrial processing residue treated with urea and fibrolytic enzymes.** Itapetinga, BA: State University of Southwest Bahia - UESB, 2015. 119 p. Thesis. (Ph.D. in Animal Science, Area of Concentration in Ruminat Production).*[2]

The objective was to evaluate the effects of treatment with urea and fibrolytic enzymes of cotton industrial processing residue on chemical composition, fractionation of carbohydrates and nitrogen and estimates the energy content of scanning of cotton waste; evaluate the degradability of dry matter and fibrous fraction and kinetics of rumen fermentation by semiautomatic technique *in vitro* gas production due to the treatment with urea and fibrolytic enzymes on cotton industrial processing residue; and quantify the effects of diets formulated with cotton residue treated with urea and levels of fibrolytic enzymes on intake, digestibility and animal performance in feedlot lambs. A completely randomized design in a 2 x 4 factorial design was used, with two levels of urea (0 and 6%) and four levels of enzymes (0, 2, 4 and 6%), based on DM, with four replications. For the chemical treatment, the urea was dissolved in water and calculating the amount of water to raise the moisture to 25% of the material. The fibrolytic enzyme mixture consisted of 75% of cellulase and hemicellulase 25%. Were determined chemical composition. In the evaluation of gas production, the gas pressure was measured 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72, 96 and 120 hours after inoculation. To evaluate the ruminal degradability of dry matter and fiber fraction, the material was incubated in F57 filter bags, using an incubator, at 0 (direct washing), 6, 12, 24, 48, 96 and 120 hours. In animal test, were used 30 sheep Santa Inês, with average weight of 20 kg, aged 90 and 120 days. The was used for cotton industrial processing residue, pretreated with 6% urea and four levels of fibrolytic enzymes (0, 2, 4 and 6%, based on DM) (75% cellulase and hemicellulase 25%) and a control treatment without adding urea and enzymes. Isonitrogenous and isocaloric diets were

[2] Adviser: Mauro Pereira de Figueiredo, Dr. UESB and Co-adviser: Joel Queiroga Ferreira, Dr. UESB e Danilo Gusmão de Quadros, Dr. UNEB.

used, containing the cotton industrial processing residue, corn, soybean meal and minerals in the concentrate, in a concentrated forage 50:50, in DM basis. The results of cell wall components presented interaction between urea and enzymes only for the ADF. The effects of enzyme treatment got a negative linear effect for all parameters of the cell wall, reflecting the increased cell wall. For the nitrogen fraction of the results, there was a significant interaction between doses of urea and fibrolytic enzymes to the total nitrogen variables (TN) and the fractions A and C. In the fraction of carbohydrates was no interaction between urea and doses of enzymes for total carbohydrates and non-fibrous carbohydrates. The maximum volume of gas production of fast phase (Vf1) differ for treatments with ammoniation with and without urea. The results of the MS of the degradability parameters showed no interaction with any parameter. The fraction "b" and "c" was observed with the addition of urea increased, but decreased for the effective degradation of 5% and 8% with the addition of urea. The consumer had the means DM (1311.4), OM (1189.9), CP (254.1), EE (44.1), NDF (748.9), ADF (487.9), CF (670 4) and TDN (810.0) g/day. The results of apparent digestibility of crude protein and ether extract showed no significant differences (P> 0.05) between the enzymatic treatments and the control diet, or between the levels of enzymes in the treatment of cotton industrial processing residue, while the remaining significant effect.

In relation to the levels of enzymes used, there is a linearly increased digestibility of DM, OM, NFC and TDN, 1.7; 1.3; 1.2 and 1.2 percentage units for each 1% of applied enzyme, and reduced digestibility of NDF ADF and CF 0.3; 0.5 and 0.4 percentage units for each 1% of enzyme applied, respectively. The mean values of the treatments with fibrolytic enzymes had no effect, compared to the control group, on the data of assessed performance. The simultaneous action of urea and fibrolytic enzymes acts effectively in improving the nutritional value of cotton industrial processing residue, reflected in better results in laboratory tests. Also in the evaluation with the animals, the apparent digestibility of nutrients showed a positive effect of fibrolytic enzymes. Therefore, the use of 6% urea and 6% enzyme acts effectively for improving the nutritional value of cotton residue.

Palavras-chave: cellulase, ruminal degradation, ruminants, roughage treatment.

I – REFERENCIAL TEÓRICO

A procura por alimentos volumosos para os rebanhos em épocas secas constitui-se em uma tarefa difícil para muitos produtores rurais em razão da irregularidade ou distribuição inadequada das chuvas. Tendo como objetivos à redução de custos e garantia da disponibilidade de alimentos para ruminantes, torna-se importante buscar-se uma adequação com alternativas de diversos recursos alimentares visando facilitar o gerenciamento e aumentar a produtividade dos rebanhos neste cenário.

O Brasil, por ser um dos principais produtores agrícolas mundiais, gera anualmente uma grande variedade e quantidade de resíduos agroindustriais. Estes resíduos podem assumir destacada importância na alimentação de ruminantes, principalmente, em períodos nos quais a escassez de forragens torna-se o fator preponderante, limitando a produtividade desses animais.

A Bahia é destaque na produção de algodão, se posicionando como segundo maior produtor nacional. No oeste da Bahia estão concentradas quase 95% da área plantada do Estado, com 308 mil hectares cultivados e uma produção de 1,25 milhão de toneladas de algodão em capulho (501,7 mil toneladas em pluma e 677,3 mil toneladas em caroço) (AIBA, 2014).

Não obstante, também a região de Guanambi e no Vale do Iuiú, localizados na região Sudoeste da Bahia, caracterizadas tradicionalmente pela produção algodão no passado, ainda encontram-se unidades de processamento de algodão para a fabricação da torta e farelo, resultando também na disponibilidade de resíduo de algodoeiras.

Na agroindústria do processamento do algodão é gerado um resíduo, denominado de resíduo de algodoeira, sendo constituído de pedaços de caule e folhas, líter e sépalas, capulho e caroço, o qual não tem destino apropriado. Este se acumula nos pátios das agroindústrias de processamento de algodão e é geralmente usado como adubo, ou mesmo como componente de rações de bovinos. Quando usado para este último fim, ele se caracteriza pelo seu baixo valor nutritivo (baixo teor de nitrogênio e alto teor de FDN). O resíduo de varredura das algodoeiras é produzido na proporção de

2 a 5% do total colhido, dependendo da regulagem das máquinas e de tratos culturais antes da colheita (aplicação de desencante, desfolhante) (Quadros et al., 2012).

A possibilidade de uso mais racional do resíduo de algodoeira, previamente tratado, melhoraria o seu valor nutricional, disseminando a sua utilização nos confinamentos de bovinos durante a entressafra das pastagens. Justamente no período de seca havendo uma redução quantitativa e qualitativa na oferta de pastos, o resíduo de algodoeira está disponível para uso.

A amonização, por meio da adição de uréia ao volumoso, tem sido uma alternativa no campo para a melhoria do valor nutricional de volumosos de baixa qualidade, viabilizando o uso deste nas dietas de ovinos em confinamento, em razão de ser prática, não contaminar o ambiente e fornecer nitrogênio não-protéico.

Amonização tanto com NH_3 e ureia tem apresentado resultados satisfatórios, tanto na modificação da sua composição química, como no desempenho dos animais. No entanto, alguns fatores são responsáveis pela maior ou menor eficiência amonização e esses fatores podem influenciar o processo de forma isolada ou combinada.

O efeito da amonização sobre os constituintes da parede celular tem mostrado algumas contradições. A fração da FDN, normalmente, diminui, em razão da solubilização parcial da hemicelulose, entretanto, algumas vezes, estes efeitos não são relatados. No que se refere à FDA, apesar de a maioria dos trabalhos mostrarem a não alteração deste componente, alguns relataram diminuição e outros, aumentos. O acréscimo da fração FDA é atribuído ao N adicionado, que se apresenta, em parte, na forma de NIDA (nitrogênio insolúvel em detergente ácido) e, quando se observa diminuição, parte da lignina pode ser solubilizada. Segundo Fahmy & Klopfenstein, (1994), indicam uma forma de ação na fração da celulose, ocorrendo expansão da mesma, constatando-se que, mesmo quando não há redução na parede celular de materiais amonizados, pode ocorrer aumento na DIVMS.

A técnica da amonização tem sido utilizada com o intuito de conservar forragens com níveis adequados de umidade, e também para a melhoria do valor nutritivo de volumosos em geral por meio do fornecimento de nitrogênio não protéico, por redução da fração da fibra em detergente neutro (FDN) e pelo aumento na digestibilidade do material tratado. Além do efeito sobre a fibra, a amonização aumenta a disponibilidade de carboidratos prontamente fermentescíveis para os microrganismos do rúmen, elevando o conteúdo de nitrogênio não protéico dos volumosos de baixa

qualidade. O resultado é um aumento significativo (8 a 12%) na digestibilidade da forragem tratada, principalmente fenos e palhadas (Reis & Rodrigues, 1993).

Os efeitos da amonização sobre a estrutura da fibra dos volumosos incluem a solubilização da hemicelulose, o aumento da digestão da celulose e da hemicelulose em razão da expansão da fração fibrosa (Jackson, 1977 e Klopfenstein, 1978). A celulose se expande quando tratada com agentes alcalinos, o que reduz as ligações intermoleculares das pontes de hidrogênio, que ligam moléculas de celulose. Parte da lignina e sílica é dissolvida durante a amonização e as ligações intermoleculares do tipo éster entre o ácido urônico da hemicelulose e da celulose são também rompidos (Van Soest, 1994).

Forragens, em geral, apresentam estrutura complexa em sua parede celular, composta, principalmente, das frações de celulose, hemicelulose e lignina (Garcia e Pires, 1998). A associação da lignina com as outras duas frações é responsável pela baixa digestibilidade de muitas forragens. Pires et al. (2003) em revisão sobre amonização, descreve que essa técnica tem sido utilizada com o intuito de conservar forragens com alto teor de umidade (maior que 30%), como silagens, e também para a melhoria do valor nutritivo de volumosos em geral por meio do fornecimento de nitrogênio não protéico, por redução de na fração da fibra em detergente neutro (FDN) e pelo aumento na digestibilidade do material tratado.

A ureia é um produto químico que se apresenta em estado sólido, na cor branca, sendo higroscópica e solúvel em água, álcool e benzina, tendo sua forma química CH_4N_2O. A ureia tem sido uma das principais alternativas em razão de ser de fácil aplicação, fornecer nitrogênio não protéico, provocar decréscimo no conteúdo de fibra em detergente neutro (FDN), favorecer a solubilização parcial da hemicelulose, aumentar o consumo e a digestibilidade, além de conservar as forragens com alto teor de umidade (Rosa e Fadel, 2001).

Segundo Pires et al. (2004), a ureia possui em média, 44% de nitrogênio, é encontrada na forma sólida e necessita de umidade e presença da enzima urease para que possa produzir $2NH_3$ + CO2 , para cada molécula de ureia.

Simultaneamente, ocorrem dois processos dentro da massa da forragem tratada com ureia: ureólise, a qual transforma a ureia em amônia, e o segundo ocorre posteriormente, quando a amônia formada gera os efeitos nas paredes da célula da forragem (Reis et al., 2001).

No processo de amonização, adição de amônia em volumosos a base fraca forma-se por meio de reação exotérmica, que pode ser constatada pelo aumento da temperatura na forragem em tratamento (Sundstol e Coxworth, 1984). Segundo estes autores inúmeros fatores podem afetar a eficiência da amonização, destacando-se a quantidade aplicada, o período de tratamento e a umidade da forragem.

Adicionalmente, o uso de enzimas fibrolíticas exógenas na alimentação de ruminantes como aditivos, tem mostrado efeitos positivos na digestão de alimentos e desempenho animal. Em alguns estudos a ação direta das enzimas fibrolíticas nos alimentos volumosos, melhorou ingestão de matéria seca (MS), a digestibilidade da fibra "*in vivo*" e o desempenho animal.

A maioria das preparações comerciais enzimáticas consiste em subprodutos ou extratos fermentativos microbianos (*Bacillus* sp.) ou fúngicos (*Trichoderma* sp. e *Aspergillus* sp.), que normalmente produzem três tipos principais de celulases, chamados endocelulases (endoglucanase, endo-ß-1,4-glucanase, carboximetil celulase ou ß-1,4-glucana-glucano-hidrolase), exocelulases (exoglucanase, exo-ß-1,4-glucanase, celulase ß-1,4-celobiosidase) e ß-glicosidases (celobiase ou gluco-hidrolase) tanto como entidades separadas ou na forma de complexos agregados para a hidrólise da celulose (Bhat & Bhat, 1997).

Segundo Bhat & Hazlewood (2001), as enzimas endoglucanases hidrolisam sítios aleatórios da cadeia de celulose, produzindo oligômeros de graus variados de polimerização; as exoglucanases hidrolisam terminações não reduzidas produzindo celobiose; e ß-glicosidases liberam glicoses a partir de celobiose e oligossacarídeos de cadeia curta.

Já a fração hemicelulose requer maior diversidade de enzimas para a hidrólise completa a açúcares solúveis. As duas enzimas principais são endoxilanases (xilanases) e endomananases (mananases), que atuam na região interna do polímero. Outras hemicelulases incluindo ß-xilosidases, ß-manosidases, α-L-arabinofuranosidases, α-D-glicuronidases, α-galactosidases, acetil e fenil esterases clivam cadeias lineares e substituintes (Coughlan & Hazlewood, 1993; Bhat & Hazlewood, 2001).

Estudos vêm demonstrando que enzimas fibrolíticas podem agir diretamente sobre a fibra ou aumentar a degradação da MS e da FDN no rúmen (Feng et al., 1996; Hristov et al., 2000). De acordo com McAllister et al. (2001), essas ações estariam interligadas, de modo que as alterações mediadas pelas enzimas antes do consumo

refletiriam nas digestões ruminal e pós-ruminal dos nutrientes, com aumento da produção de leite (Schingoethe et al., 1999) ou do ganho de peso dos bovinos (Beauchemin et al., 1995).

Os efeitos das enzimas são influenciados por diversos fatores como tipo e dose de enzima, da dieta fornecida aos animais, método de aplicação das enzimas, e até mesmo o nível de produtividade animal (Beauchemin et al., 2003). Dos fatores relacionados à dieta, a eficácia das enzimas fibrolíticas foi mostrado podendo variar com o tipo de forragem (Colombatto et al, 2003), método de aplicação das enzimas e o componente da dieta a que a enzima é adicionada (Beauchemin et al., 2003).

Segundo Beauchemin et al, (2003), a temperatura de aproximadamente 40°C e um pH entre 4 e 5, são as condições ideais para a maioria das enzimas comerciais.

O método de aplicação das enzimas fibrolíticas é um fator decisivo para a ação das mesmas, daí a necessidade de determinar se as enzimas fibrolíticas são mais efetivas quando adicionadas diretamente na forragem, no concentrado ou na mistura total da ração (Yang et al., 1999). Segundo Yang et al. (2000), as enzimas fibrolíticas, quando aplicadas diretamente no concentrado da dieta para vacas, no início de lactação, proporcionaram aumentos de 6,25% na produção de leite em razão do incremento da digestibilidade de nutriente no trato digestivo total. No entanto, quando estas enzimas eram misturadas diretamente na ração de mistura total, não havia aumento na produção de leite (37,4 kg/dia), apesar de aumentar a digestibilidade (de 63,9 para 66,6%).

Sutton et al. (2003), avaliando diferentes formas de aplicação de enzimas fibrolíticas, pulverizando-as na ração de mistura total e no concentrado uma hora antes do fornecimento, ou através de infusão ruminal, constataram que o melhor tratamento ocorreu quando se aplicava as enzimas sobre a mistura total da ração. Contudo, os três métodos de aplicação apresentaram resultados semelhante quanto a fermentação e cinética ruminal.

Michal et al. (1996) realizaram a aplicação direta de enzimas fibrolíticas em feno de alfafa momentos antes de ofertar aos animais, e propuseram como uma forma viável a utilização deste método como modo de aplicação.

Segundo Kung Jr et al. (2002), em dietas contendo 55% de concentrado, 30% de silagem de milho e 15% de feno de alfafa, a aplicação das enzimas fibrolíticas celulase e xilanase também não se mostraram eficiente no incremento da produção de leite e ingestão de MS em vacas leiteiras produzindo 40 kg/dia de leite.

De acordo com Wallace & Hartnell (2001) é mais fácil misturar pequenas quantidades da preparação enzimática em condições experimentais do que grandes quantidades, normalmente usadas em fazendas. Os autores sugerem que a efetividade dos aditivos enzimáticos seria dependente de seu local de ação. Se a eficiência do aditivo dependesse principalmente do manejo pré-alimentar, haveria necessidade de uma distribuição homogênea no alimento antes do consumo. Caso contrário, se essa eficácia dependesse de parâmetros ruminais, essa distribuição homogênea passaria a não ser crítica, uma vez que as enzimas seriam misturadas no rúmen como parte do processo de digestão.

Entretanto, Loures et al. (2005) relatam que a aplicação de 150 g da preparação enzimática foram diluídos em 500 L de água destilada e dessa solução, foram aplicados 10 L por tonelada de silagem minutos antes do fornecimento da ração proporcionando os melhores resultados sobre a digestibilidade da fração fibrosa indicando que, talvez essa forma de aplicação seja o método mais adequado para garantir maior efetividade das enzimas fibrolíticas.

Willis et al. (1980) realizaram estudos para determinar os efeitos do hidróxido de sódio (NaOH), de enzimas microbianas (hemicelulase, pectinase e β-glucosidase) e combinações de tratamentos com NaOH e enzimas sobre a digestibilidade em palha de arroz ensilada. Eles observaram que a DIVMS da palha de arroz tratada com pectinase e β-glucosidase individualmente, e em associação com hemicelulase foram menores do que o controle, 27,3; 29,9; 28,0 e 32,2%, respectivamente, e o tratamento com hemicelulase resultou em valores semelhantes ao controle, iguais a 31,2 e 32,2%, respectivamente. Porém, a digestibilidade da MS do material tratado com 2 a 5% NaOH foi melhorada significativamente, variando de 46,4 para 55,4%.

Tang et al. (2007) testaram o efeito de leveduras e enzimas sobre características de fermentação *in vitro* em palhadas de cereais, encontrando interação entre levedura e enzimas fibrolíticas na degradabilidade da MS e MO, sugerindo que os níveis adequado de suplementação de levedura e enzimas fibrolíticas são de 5,0 e 7,5 g/kg MS de palhadas, respectivamente. Quando a levedura e enzimas fibrolíticas foram ajustadas a estes níveis, ocorreram os maiores valores de DIVMS e DIVMO.

Feng et al. (1996) utilizando gramíneas secas, frescas ou reidratadas, observaram maior digestibilidade *in vitro* e *in vivo* da MS e da FDN em gramíneas secas tratadas com enzimas fibrolíticas. Yang et al. (2000) relataram aumento da digestibilidade da

dieta quando enzimas foram adicionadas ao concentrado, não observando efeito para mistura total.

Não existem trabalhos relatando o tratamento do resíduo de algodoeira amonizado e tratado biologicamente com enzimas fibrolíticas, vislumbrando a possibilidade de efeito aditivo destes sobre o valor nutricional deste resíduo.

Portanto, avaliará os efeitos da amonização em conjunto com a adição de enzimas fibrolíticas objetivando a melhoria do valor nutricional do resíduo de algodoeira possibilitando sua utilização racional no confinamento de ovinos.

1.1 Referências Bibliográficas

AIBA – ASSOCIAÇÃO DOS IRRIGANTES DO OESTE DA BAHIA. Anuário da região oeste da Bahia: safra 2013/14. Barreiras:AIBA, 2014. 112p. Disponível em: http://www.aiba.org.br/informaiba/anuario_regiao_oeste_bahia_2013-2014.pdf Acesso em: 15-11-2014.

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

BHAT, M.K.; BHAT, S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. **Biotechnology Advances**, v.15, n.3, p.583-620, 1997.

BHAT, M.K.; HAZLEWOOD, G.P. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. In: BEDFORD, M.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. Ed. CABI Publishing, Oxon, UK. p.11-60, 2001.

COLOMBATTO, D.; BEAUCHEMIN, K. A. A proposed methodology to standardize the determination of enzymic activities present in enzyme additives used in ruminant diets. **Canadian Journal of Animal Science,** v. 83, n.3, p.559-568, 2003.

COUGHLAN, M.P.; HAZLEWOOD, G.P. ß-1,4-D-Xylan-degrading enzyme systems: biochemistry, molecular biology and applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v.17, n.3, p.259-289, 1993.

FAHMY, S.T.M.; KLOPFENSTEIN, T.J. Treatment with different chemicals and their effects on the digestibility of maize stalks. 2. Intake and *in vivo* digestibility as affected by chemical treatment and monensin supplementation. **Animal Feed Science Technology**, v.45, n.34, p.309-316, 1994.

FENG, P.; HUNT, C.W.; PRITCHRD, G.T.; JULIEN W.E. Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vivo* additives degradation and *in vivo* digestives

characteristics of mature cool-season grass in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, n.6, p.1349-1357, 1996.

GARCIA, R.; PIRES, A.J.V. Tratamento de volumosos de baixa qualidade para utilização na alimentação de ruminantes. In: Congresso Nacional dos Estudantes de Zootecnia. **Anais...** Viçosa: AMEZ, p. 33-60. 1998.

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, n.2, p.477-487, 2000.

JAKCSON, M.G. Review article: the alkali treatment of straws. **Animal Feed Science and Technology**, v.2, n.2, p.105-130, 1977.

KLOPFENSTEIN, T.J. Chemical treatment of crops residues. **Journal of Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 841-848, 1978.

KUNG JR., L.; COHEN, M.A.; RODE, L.M.; TREACHER, R.J. The effect of fibrolytic enzymes sprayed onto forages and fed in a total mixed ratio to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.9, p.2396-2402, 2002.

LOURES, D.R.S.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; PEDROSO, A.F.; MARI, L.J.; RIBEIRO, J.L.; ZOPOLLATTO, M.; SCHMIDT, P.; JUNQUEIRA, M.C.; PACKER, I.U.; CAMPOS, F.P. Efeito de enzimas fibrolíticas e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.736-745, 2005.

MALLMANN, G.M.; PATINO, H.O.; SILVEIRA, A.L.F.; MEDEIROS, F.S.; KNORR, M. Consumo e digestibilidade de feno de baixa qualidade suplementado com nitrogênio não protéico em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.331-337, 2006.

MCALLISTER, T.A.; HRISTOV, A.N.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; CHENG, K.J. Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. Ed. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK, p. 273-298, 2001.

MICHAL, J.J.; JOHNSON, K.A.; TREACHER, R.J. The impact of direct fed fibrolytic enzymes on the growth rate and feed efficiency of growing beef steers and heifers. **Journal of Animal Science**, v.74, supl.1, p.296, 1996.

PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; SOUZA, A.L.; SILVA, F.F.; VELOSO, C.M.; CARDOSO, G.C.; OLIVEIRA, T.N.; SILVA, P.A. Avaliação do consumo de silagens de sorgo tratadas com amônia anidra e, ou, sulfeto de sódio na alimentação de novilhas ¾ Indubrazil/ Holandês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1525-1531, 2003.

PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, O.G.; CECON, P.R.; SILVA, F.F.; SILVA, P.A.; VELOSO, C.M. Novilhas alimentadas com bagaço de cana-de-açúcar tratado com amônia anidra e, ou, sulfeto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1078-1085, 2004.

QUADROS, D.G.; ANDRADE, A.P.; FIGUEIREDO, M.P.; SOARES, D.S.; SANTOS, D.A.; JUNIORM O.F.; ROCHA, J.R.P.; ROSEIRA, J.P.S. Composição bromatológica do resíduo de algodoeiras tratado com uréia e enzimas fibrolíticas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49, 2012, Brasília. **Anais**... Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012. (CD-ROM).

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. **Amonização de volumosos**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP,1993. 22p.

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; PEREIRA, J.R.A.; RIGGIERI, A.C. Composição química e digestibilidade de fenos tratados com amônia anidra ou uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.30, n.3, p.666-673, 2001.

ROSA, B.; FADEL, R. Uso de amônia anidra e de uréia para melhorar o valor alimentício de forragens conservadas. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, Maringá, 2001. **Anais...** Maringá:UEM, 2001. p.41–63.

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**, v.82, n.5, p.996-1003,1999.

SUNDSTOL, F.; COXWORTH, E.M. Ammonia treatment. In: SUNDSTOL, F.; OWEN, E. **Straw and others fibrous by-products as feed**. Amsterdam: ELSEVIER PRESS, 1984, p.196-247.

SUTTON, J.D.; PHIPPS, R.H.; BEEVER, D.E.; HUMPHRIES, D.J.; HARTNELL, G.F.; VICINI, J.L.; HARD, D.L. Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive process and milk production in Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.2, p.546-556, 2003.

TANG, S.X.; TAYO G.O.; TAN Z.L.; SUN, Z.H.; SHEN, L.X.; ZHOU, C.S.; XIAO, W.J.; REN, G.P.; HAN, X.F; SHEN, S.B. Effects of yeast culture and fibrolytic enzymes supplementation on in vitro fermentation characteristics of low-quality cereal straws. **Journal of Animal Science,** v.86, n. 5, p. 1164-1172, 2007.

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

WALLACE, R.J.; HARTNELL, G.F. Technical note: methods for detecting liquid enzyme additives added to animal feeds. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.10, p.2731-2735, 2001.

WILLIS, C. M.; STALLCUP, O. T.; KREIDER, D. L. Influence of sodium hydroxide and enzyme additions on nutritive values of rice straw**. Journal of Animal Science**, v. 50, n.2, p.303-308, 1980.

YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.11, p.2512-2520, 2000.

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.

II – OBJETIVOS

1. Gerais

Avaliar a ação simultânea da ureia e enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeiras, para melhoria do seu valor nutritivo e utilização na alimentação de ruminantes.

2. Específicos

Avaliar a eficácia da ação das enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas em ensaios padrão para determinação da atividade enzimática utilizando carboximetilcelulose e xilana como substratos;

Avaliar os efeitos do tratamento com ureia e enzimas fibrolíticas sobre a composição bromatológica, fracionamento dos carboidratos e nitrogênio e estimativas do conteúdo energético do resíduo de varredura das algodoeiras;

Avaliar a degradabilidade da matéria seca e fração fibrosa e cinética da fermentação ruminal, por meio da técnica semiautomática *in vitro* de produção de gases em função do tratamento com ureia e enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira;

Quantificar os efeitos de dietas formuladas com resíduo de algodoeiras tratado com ureia e níveis de enzimas fibrolíticas como único volumoso sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes e desempenho em cordeiros confinados.

III – CAPÍTULO I

COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DO RESÍDUO DE ALGODOEIRAS TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS

Resumo: Objetivou-se avaliar a composição bromatológica do resíduo de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas (celulase e hemicelulase). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com duas doses de ureia (0 e 6%) e quatro doses de enzimas (0, 2, 4 e 6%), com base na matéria seca, com quatro repetições. Para o tratamento químico, a ureia foi dissolvida em água e calculada a quantidade de água para elevar a umidade do material para 25%. A mistura de enzimas fibrolíticas foi composta de 75% de celulase e 25% de hemicelulase. Foram determinados a composição bromatológica, fracionamento dos carboidratos e nitrogênio, e estimativas e conteúdo energético. Para os resultados de matéria seca e extrato etéreo os mesmos apresentaram interação significativa entre ureia e enzimas. Para os resultados de cinzas e digestibilidade *in vitro* da matéria seca, foi observado que os valores médios aumentaram com o tratamento químico da ureia, em relação ao não tratado. Os resultados dos componentes da parede celular apresentaram interação entre ureia e enzimas somente para os teores de fibra em detergente ácido. Os efeitos do tratamento enzimático obteve um efeito linear negativo para todos os parâmetros avaliados da parede celular. Para os resultados das frações nitrogenadas, houve efeito da interação entre as doses de ureia e enzimas fibrolíticas para as variáveis de nitrogênio total e nas frações A e C. Na fração dos carboidratos houve interação entre as doses de ureia e de enzimas para os carboidratos totais e carboidratos não fibrosos. Os valores médios estimados do conteúdo energético não apresentaram interação significativa entre as doses de ureia e enzimas. Em todos os parâmetros analisados ocorreram aumentos nos valores médios com o tratamento da ureia em relação ao material não tratado. O resíduo de varredura de algodoeira teve seu valor alimentício melhorado com o tratamento associado da ureia e enzimas fibrolíticas, podendo ser potencialmente utilizado como volumoso para os ruminantes.

Palavras – chave: amonização, subprodutos, volumoso.

CHEMICAL COMPOSITION OF COTTON PROCESSING RESIDUE TREATED WITH UREA AND FIBROLYTIC ENZYMES

Abstract: The objective was to evaluate the chemical composition of the residue of scan from cotton treated with urea and fibrolytic enzymes (cellulase and hemicellulase). A completely randomized design in a 2 x 4 factorial design was used, with two levels of urea (0 and 6%) and four levels of enzymes (0, 2, 4 and 6%), based on DM, with four replications. For the chemical treatment, the urea was dissolved in water and calculating the amount of water to raise the moisture to 25% of the material. The fibrolytic enzyme mixture consisted of 75% of cellulase and hemicellulase 25%.Were determined chemical composition, fractionation of carbohydrates and nitrogen, and estimates of NDT and energy content. For the results of DM and EE they show significant interaction. For the results of MM and IVDMD, it was observed that the mean values increased with the chemical treatment of urea, relative to the untreated. The results of cell wall components presented interaction between urea and enzymes only for the ADF. The effects of enzyme treatment got a negative linear effect for all parameters of the cell wall. For the nitrogen fraction of the results, there was a significant interaction between doses of urea and fibrolytic enzymes to the total nitrogen variables (TN) and the fractions A and C. For fraction B1+B2 and B3 there was no interaction effect. In the fraction of carbohydrates was no interaction between of levels urea and enzymes to the total carbohydrates and non-fibrous carbohydrates. The estimated mean values of TDN and energy content showed no significant interaction between levels of urea and enzymes. In all analyzed parameters were increases in average values with the treatment of urea compared to untreated. The residue of scan from cotton had their nutritional value enhanced with the associated treatment urea and fibrolytic enzymes and can be potentially used as roughage for ruminants.

Key words: ammoniation, cellulase, hemicelulase

INTRODUÇÃO

O Brasil, por ser um dos principais produtores agrícolas mundiais, gera anualmente uma grande variedade e quantidade de resíduos agroindustriais. Estes resíduos podem assumir destacada importância na alimentação de ruminantes, principalmente, em períodos nos quais a escassez de forragens torna-se o fator preponderante, limitando a produtividade desses animais.

A Bahia é destaque na produção de algodão, se posicionando como segundo maior produtor nacional. No oeste da Bahia estão concentradas quase 95% da área plantada do Estado, com 308 mil hectares cultivados e uma produção de 1,25 milhão de toneladas de algodão em capulho (501,7 mil toneladas em pluma e 677,3 mil toneladas em caroço) (AIBA, 2014).

Na agroindústria do processamento do algodão é gerado um resíduo, denominado de resíduo de algodoeira, sendo constituído de pedaços de caule e folhas, líter e sépalas, capulho e caroço, o qual não tem um destino apropriado. Este se acumula nos pátios das algodoeiras e é geralmente usado como adubo, ou mesmo como componente de rações de bovinos. Quando usado para este último fim, ele se caracteriza pelo seu limitado valor nutritivo (alto teor de FDN e baixo teor de nitrogênio). O resíduo de varredura das algodoeiras é produzido na proporção de 2 a 5% do total colhido, dependendo da regulagem das máquinas e de tratos culturais antes da colheita (aplicação de desencante, desfolhante) (Quadros et al., 2012).

De acordo com Mallmann et al. (2006) em condições onde são utilizadas forragens de baixa qualidade (alto teor de FDN), o primeiro fator nutricional limitante do desempenho animal é a disponibilidade de energia e, para os microrganismos ruminais a disponibilidade de proteína e minerais. Portanto, é de grande importância a otimização do ambiente ruminal, visando melhorar a utilização dos alimentos fibrosos.

Reis et al. (2003); Gobbi et al. (2005); Bertipaglia et al. (2005) e Carvalho et al. (2006) têm indicado que o tratamento de volumosos de baixo valor nutritivo, utilizando fontes de amônia, pode melhorar a qualidade desses produtos, elevando significativamente seu valor nutritivo, consumo e consequentemente aproveitamento pelos animais, por promover reduções nos componentes das frações fibrosas e aumento nos compostos nitrogenados.

Entre os produtos químicos utilizados para a conservação de forragens, a ureia e amônia anidra (NH_3) são os mais usados. Uma das razões para a conservação dos

volumosos assim tratados reside no efeito bacteriostático e fungicida que eles têm sobre a forragem armazenada em umidade superior a 20%. Além disso, eles proporcionam nitrogênio não protéico, que pode ser usado pelos microrganismos do rúmen para a síntese de proteína microbiana.

Adicionalmente aos tratamentos químicos, também os biológicos como as enzimas têm sido utilizadas há décadas para melhorar a utilização de dietas de suínos e aves. Por muitos anos pesquisadores foram desencorajados de utilizar enzimas para melhorar a utilização de dietas de ruminantes por causa da percepção de que a capacidade hidrolítica do rúmen não poderia ser aumentada por enzimas suplementares. Além desta, também as preocupações de que as enzimas seriam ineficazes devido à proteólise ruminal tornando-as sem efeito. Estudos recentes demonstraram que o tratamento biológico com enzimas fibrolíticas aumenta a produtividade animal, e vários produtos de enzimas fibrolíticas estão disponíveis atualmente no mercado. No entanto, resultados de estudos *in vitro* e de desempenho animal sobre os efeitos da aplicação de enzimas fibrolíticas nos alimentos não foram unanimemente favoráveis de seus benefícios (Adesogan, 2005).

O valor nutritivo de um alimento depende de sua composição química e do nível de aproveitamento dos nutrientes pelos animais, sendo que nos animais ruminantes este aproveitamento é decorrente da simbiose entre o animal e a microbiota ruminal. Tal simbiose permite a utilização indireta de carboidratos estruturais inacessíveis à ação enzimática dos mamíferos (Mizubuti et al., 2014).

Atualmente, metodologias de avaliação de alimentos para ruminantes objetivam rapidez, baixo custo e confiabilidade. Aliado a este fato, os sistemas atuais de adequação de dietas para ruminantes necessitam da composição e características dos alimentos, dentre as quais, informações no que diz respeito às suas frações de carboidratos e proteínas, bem como de suas taxas de digestão, para que se possa estimar com maior exatidão o desempenho dos animais e maximizar a eficiência de utilização dos nutrientes (Moreira et al. 2010).

Objetivou-se avaliar os efeitos do tratamento com ureia e enzimas fibrolíticas sobre a composição bromatológica, fracionamento dos carboidratos e nitrogênio e estimativas do conteúdo energético do resíduo de varredura das algodoeiras.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal – UESB, Campus de Vitória da Conquista/BA. Para avaliar o efeito da ureia e enzimas sobre o resíduo de algodoeira, foram utilizadas dois níveis de ureia (0 e 6 %) e 4 doses de enzimas fibrolíticas exógenas (0, 2, 4 e 6 %), ambas com base na MS. Para tanto, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições, onde os resultados foram analisados dentro de um esquema fatorial (2 x 4).

O resíduo de algodoeiras foi obtido na algodoeira Shayonara em Guanambi/BA. Este resíduo apresentou-se em média de 95% de MS, sendo necessário aumentar a umidade deste, para melhor eficácia da amonização (Reis & Rodrigues, 1993).

Antes do tratamento com ureia e das enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeiras, foram retiradas amostras para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 1), conforme metodologia descrita por Detmann et al. (2012).

Tabela 1. Composição químico-bromatológica e digestibilidade verdadeira *in vitro* do resíduo de varredura de algodoeira *in natura*

Componentes	Composição (%)
Matéria Seca[1]	887,5
Matéria orgânica[1]	932,6
Proteína bruta[1]	64,7
Extrato etéreo[1]	16,6
Fibra em detergente neutro[1]	753,9
Fibra em detergente ácido[1]	636,9
Hemicelulose[1]	117,0
Celulose[1]	441,3
Lignina[1]	178,0
Carboidratos não fibrosos	155,0
DIVMS[1]	452,4
PIDN[1]	14,1
NIDN[2]	174,7
PIDA[1]	12,7
NIDA[2] (% NT)	157,2
FDNcp[1] (% MS)	696,3
FDNi[1]	299,5

[1](g/kg); [2](% NT); DIVMS: digestibilidade in vitro da matéria seca; PIDN: proteína insolúvel em detergente neutro; NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro; PIDA: proteína insolúvel em detergente ácido; NIDA: nitrogênio insolúvel em detergente ácido; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDNi: fibra em detergente neutro indigestível.

Foi calculada a quantidade de água para elevar a umidade dos volumosos para 25%. A quantidade de resíduo de algodoeira utilizada em cada tratamento foi de 2 kg, sendo determinado previamente o percentual de matéria seca para aplicação dos tratamentos.

Após pesar a quantidade do resíduo os mesmo foram colocados em sacos de polietileno com dimensões de 0,45 x 0,70 m, devidamente identificados. Para o pré-tratamento com ureia as amostras do resíduo de algodoeira foram colocados em baldes com capacidade de 20 L para melhor aplicação da solução com ureia. Antes do pré-tratamento com a ureia foi adicionado ao material, grãos de soja moída como fonte de urease (1,5% com base na MS).

A ureia foi diluída em água e aplicada por aspersão e, em seguida, homogeneizada. Posteriormente, o material foi colocado novamente nos sacos de polietileno pré-identificados, fechados e cobertos por uma lona plástica ficando armazenados por 60 dias. Após este período, os sacos foram abertos e aerados por três dias.

As enzimas fibrolíticas exógenas utilizadas foram extraídas dos fungos *Trichoderma reesei* e *Aspergillus aculeatus*. O produto[3] foi constituído de celulases e hemicelulases, na forma líquida, de coloração marrom, com densidade de 1,22 g/mL, tendo como condições ótimas para atividade enzimática da celulase 45-50 ºC e pH 4,5-6,5, e da hemicelulase 40-60 ºC e pH 5,0- 6,5. Esta última, além da hemicelulase, contém outras enzimas, incluindo ß-glucanases, xilanases, arabinases, celulases e pentosanases.

Para a avaliação da atividade das enzimas celulases e hemicelulases, utilizou-se a metodologia descrita Wood e Bhat (1988) e Bailey et al. (1992), tomando como referência glicose padrão e xilose padrão, respectivamente. A atividade da endoglucanase e xilanase, para avaliação das enzimas celulases e hemicelulase foi de 2,7180 e 1,6340 $\mu mol.mL^{-1}.min$ utilizando 1% de carboximetilcelulose e xilana de aveia como substratos, respectivamente, mostrando a efetividade das enzimas, comprovada conforme Arriola et al. (2011).

Esses valores estão dentro da faixa de atuação recomendados pelo fabricante das enzimas que situa entre 700 e 50000 EGU/g para celulase e 100 e 10000 FBG/g para

[3] Novozymes Latin America Ltda: celulase (Celluclast® 1.5 L) e hemicelulase (Viscozyme® L).

hemicelulose, valores correspondidos em $mmol.mL^{-1}.min^{-1}$. Mostrando que as enzimas utilizadas possuem efetividade.

Após três dias da abertura dos sacos após a amoniólise, o material foi tratado biologicamente com as enzimas. Os tratamentos que não receberam as doses de enzimas foram acrescentados água na mesma proporção do material que recebeu enzimas, para padronização da umidade do material, colocando-os em seguida numa estufa com circulação forçada de ar, ajustada à temperatura de 40ºC, permanecendo por 24 horas.

Para as outras unidades experimentais que receberam o tratamento biológico foram calculadas as quantidades de enzimas, que correspondiam a 2, 4 e 6% com base na matéria seca, sendo diluídas em água (100 mL/kg de MS), na proporção de 75% celulase e 25% hemicelulase, sendo aplicado por aspersão, colocando-os em seguida numa estufa com circulação forçada de ar, ajustada à temperatura de 40ºC, deixando agir por 24 horas, para favorecer as condições de ação das enzimas.

Depois dessa etapa, foram coletados sub-amostras de cada unidade experimental sendo colocadas em bandejas de alumínio para secagem em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 55º C por 72 horas, em seguida, foram moídas utilizando peneiras de 1 mm e acondicionadas em recipientes de polietileno vedados com tampa e realizadas as análise laboratoriais.

Para a realização das análises bromatológicas foi determinado os teores de matéria seca (MS), nitrogênio (N), extrato etéreo (EE), cinzas, celulose, hemicelulose, lignina, nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e cinza insolúvel em detergente neutro (CIDN), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), de acordo com Detmann et al. (2012), sendo que a determinação da (FDN) e (FDA) foram avaliados pelo método da autoclave, e a hemicelulose pela diferença entre os teores de FDN e FDA.

O fracionamento dos compostos nitrogenados foi realizado segundo procedimento proposto por Licitra et al. (1996). O nitrogênio não protéico, representado pela fração A, foi determinado após o tratamento da amostra com ácido tricloroacético (TCA) a 10%, sendo obtido pela diferença entre o nitrogênio total (NT) e o nitrogênio insolúvel em TCA (NR), estimado pela seguinte fórmula: Fração “A” (%) = %NT – NR(%). A fração “B3” foi determinada pela diferença entre o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), como

se segue: Fração “B3” (%) = %NIDN - %NIDA, onde o NIDN e NIDA, respectivamente, são as frações de nitrogênio determinado no resíduo da FDN e da FDA. A fração “C” foi considerada como o NIDA e a fração “B1 + B2” foi obtida pela diferença entre o nitrogênio total e as frações “A”, “B3” e “C”.

A porcentagem de carboidratos totais (CT) foi obtida pela equação: CT = 100 - (%PB + %EE + %cinzas). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foi obtido pela equação CNF = CT - %FDNcp, em que FDNcp é a fibra em detergente neutro, corrigida para cinzas e proteína bruta (Sniffen et al., 1992). Para o tratamento com ureia (6%), os CNF foram estimados de acordo com método proposto por Hall (2000), considerando a PB da ureia**.** No fracionamento dos carboidratos, as frações “A + B1”, corresponde à porcentagem de carboidratos não fibrosos (CNF). A fração “C” foi obtida pelo produto entre o percentual de lignina e o fator 2,4. A fração “B2” foi obtida a partir da subtração entre a fração de FDNcp e a fração “C”.

Para avaliar a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), o material foi incubado utilizando os sacos de filtro ANKOM F57, adaptado para o rúmen artificial TE-150 (TECNAL) durante 48 h. A solução tampão foi preparada em recipientes pré-aquecidos (39 ºC). A solução A (g/litro) foi composta por: 10,0 g KH_2PO_4; 0,5 g $MgSO_4$.7H2O; 0,5 g NaCl; 0,1 g $CaCl_2.2H_2O$ e 0,5 g ureia; e a solução B (g/100mL): 15,0 g Na_2CO_3; 1,0 g $Na_2S_9.H_2O$. As soluções foram misturadas adicionando-se cerca de 266mL de solução B para 1330 mL de solução A (relação 1:5), a um pH final de 6,8 e temperatura de 39 ºC. Adicionaram-se cerca de 1600 mL de mistura combinada de A/B para cada jarro, em seguida 400 mL de líquido ruminal foram adicionados em cada jarro de vidro do rúmen artificial contendo os sacos de filtro ANKOM F57. Após o período de incubação, foi realizada a digestão em detergente neutro (FDN) como recomendado pela ANKOM (ANKOM TECHNOLOGY, 2010).

Para a estimativa dos teores dos nutrientes digestíveis totais (NDT), foram utilizadas as equações propostas por Weiss et al. (1992) e adotadas pelo NRC (2001), e Detmann et al. (2010), a partir das fórmulas:

$\mathbf{NDT_{NRC}}$ **(%)** = CNFdv + PBdv + (AGdv x 2,25) + FDNdv – 7, sendo:

CNFdv = 0,98 x {100 – [(FDN – PIDN) + PB + EE + Cinzas]};

PBdv = PB x exp[– 1,2 x (PIDA/PB)];

AGdv = **AG;**

FDNdv = 0,75 x {[(FDN – PIDN) – L] x [1 – $(L/FDNn)^{0,667}$]}.

Em que: CNFdv = carboidratos não-fibrosos verdadeiramente digestíveis;PBdv = proteína bruta verdadeiramente digestível; AGdv = ácidos graxosverdadeiramente digestíveis e FDNdv = fibra em detergente neutro verdadeiramentedigestível; FDN = fibra em detergente neutro; PIDN = proteína insolúvel em detergenteneutro; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; AG = ácidos graxos, nos quais AG =(EE – 1); FDNcp = FDN corrigido para cinzas e proteína; PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido; L = lignina; o fator 7 refere-se ao NDT recuperado nas fezes.

$NDT_{Detmann}$ (%) = PBadv + CNFadv + FDNd + 2,25 x EEadv, sendo:

PBadv =0,98x(PB-PIDN)+0,835x{PIDN x [1- $e^{-(0,8188+1,1676xPIDA)}$]} (Detmann et al., 2008);

CNFadv = 0,9507 x CNF (Detmann et al., 2010);

FDNd = 0,835 (FDNcp – L) x [1 – (L/FDNcp) 0,85], (Detmann et al., 2007);

EEadv = 0,8596 x EE – 0,18 (Detmann et al.,2010).

Os teores dos $NDT_{Detmann}$ foram estimados a partir das equações sugeridas para animais em crescimento e terminação em consumo voluntário, por Detmann et al.(2007, 2008a), que estimam os teores aparentemente digestíveis verdadeiro das frações da proteína bruta (PBadv), carboidratos não-fibrosos (CNFadv), extrato etéreo(EEadv), além dos teores digestíveis da fração da fibra em detergente neutro digestível livre de cinzas e proteínas (FDNd).

As estimativas do conteúdo energético em Mcal/kg MS foram calculadas como se segue:

Energia digestível (ED= (CNFdv/100) x 4,2 + (FDNdv/100) x 4,2 + (PBdv/100) x 5,6 + (AG/100)x 9,4 – 0,3);

Energia metabolizável (EM = 1,01 x (ED) – 0,45] + 0,0046);

Energia líquida de mantença (EL_m = 1,37 EM – 0,138EM^2+ 0,0105EM^3– 1,12);

Energia líquida de ganho (EL_g = 1,42EM – 0,174EM^2+ 0,0122 EM^3– 1,65);

Energia líquida de lactação (EL_{lact}=0,0245 * NDT% – 0,12), foram obtidas por intermédio das equações sugeridas pelo NRC (2001).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Para avaliação do efeito ureia, foi utilizado o teste F, e regressão, para avaliar os efeitos do aumento das doses de enzimas sobre as variáveis resposta. As médias foram analisadas com o auxílio do programa estatístico Statistical Analyses System - SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No momento da abertura dos sacos, foram observados coloração marrom escuro e odor amoniacal nos tratamentos que receberam ureia, enquanto os tratamentos em que foram utilizadas as enzimas fibrolíticas, estes apresentaram coloração marrom claro, própria do resíduo de varredura de algodoeiras. As alterações na colocação dos materiais amonizados ocorrem em virtude da oxidação de grupos fenóis ou condensação da fração aldeído dos açúcares com o nitrogênio, (Schuerch & Davidson, 1971).

Os resultados da matéria seca (MS) e extrato etéreo (EE) apresentaram interação significativa entre os níveis de ureia e enzimas fibrolíticas (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios da matéria seca, cinzas, e extrato etéreo do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	**Enzimas (%)** 0	2	4	6	Médias	CV(%)	Equação	R^2
					Matéria Seca (%)			
0	74,1 a	70,3 a	70,3 a	71,0 a	71,4	2,5	$\hat{Y}$= 73,942 - 2,133x + 0,2783x^2	0,95
6	74,1 a	63,9 b	64,1 b	66,4 b	67,1		$\hat{Y}$= 73,669 - 5,809x + 0,780x^2	0,95
					Cinza (%MS)			
0	6,2	5,9	6,2	6,8	6,3 b			
6	6,3	6,9	6,5	7,5	6,8 a	6,7	$\hat{Y}$= 6,143 + 0,129x	0,71
Médias	6,2	6,4	6,4	7,1				
					Extrato Etéreo (%MS)			
0	1,8 a	1,5 a	1,4 a	1,2 b	1,5	10,1	$\hat{Y}$= 1,843 - 0,106x	0,96
6	1,7 a	1,6 a	1,3 a	1,5 a	1,5		$\hat{Y}$= 1,525	-

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo Teste de F (P<0,05). R^2 = coeficiente de determinação. CV(%) = coeficiente de variação.

Não houve efeito da amonização para MS e EE no resíduo sem o tratamento enzimático. Porém, a amonização reduziu os teores de MS nos tratamentos do resíduo que foram realizados hidrólise enzimática (2, 4 e 6%). Nos resultados do EE, o nível de 6% de enzimas diferiu entre 0 e 6% de ureia.

A avaliação dos efeitos das enzimas fibrolíticas para o teor de MS apresentaram um efeito quadrático, obtendo pontos de mínima de 3,83 e 3,72% de enzimas para os níveis de 0 e 6% de ureia respectivamente (Tabela 2). Para o teor de EE, as enzimas fibrolíticas apresentaram um efeito linear negativo (P<0,05), quando não utilizou ureia e sem efeito significativo (P>0,05), com o tratamento de ureia. O efeito linear decrescente com o tratamento enzimático obteve uma redução de 0,106 unidades percentuais para cada 1% de enzimas aplicadas, em relação ao material sem aplicação das enzimas. Esse

resultado possivelmente ocorreu devido à heterogeneidade do resíduo de algodoeira, sendo compostos por pedaços de folhas, capulhos, caroço de algodão e línter (Tabela 2).

Para os resultados de cinzas (MM) foi observado que os valores médios (P<0,05) aumentaram com o tratamento químico da ureia, em relação ao não tratado. Para o fator enzimas ocorreu um efeito linear positivo para a (MM) (P<0,05) com aumento de 0,129 unidades percentuais para cada 1% de enzimas aplicadas no tratamento do resíduo de algodoeira, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas (Tabela 2).

A redução de MS no material amonizado pode ser explicada pelo elevado poder higroscópico da ureia e da amônia, fazendo com que o material absorva umidade do ambiente (Cândido et al.,1999). Zanine et al., (2007) avaliando diferentes doses de ureia na amonização do feno do capim Tanzânia, observaram um efeito linear negativo, obtendo-se na dose mais elevada de ureia (3,0%) o menor valor de MS (39,40%).

A elevação dos teores de cinza (P<0,05) com a amonização tem relativamente pouco valor quando se trata de volumosos, porque fornece pouca informação sobre sua composição, uma vez que seus componentes em minerais são muito variáveis, e as forrageiras possuem bastante sílica, principalmente se tratado de resíduos da agroindústria (Silva & Queiroz, 2005).

Para os componentes da parede celular, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose e lignina, observou-se interação (P<0,05) entre os níveis ureia (presença e ausência) e enzimas fibrolíticas somente para a FDA (Tabela 3).

A avaliação dos efeitos da ureia sobre os componentes da parede celular foi positiva, observando uma redução nos parâmetros estudados, diferindo estatisticamente (P<0,05) entre os tratamentos com e sem ureia, com exceção da hemicelulose que não apresentou efeito significativo (P>0,05) da amonização.

Os tratamentos associado da ureia e enzimas fibrolíticas combinaram numa redução de 11,39; 6,66 e 4,34% para os resultados da FDN, celulose e lignina, respectivamente, em relação ao material não tratado com ureia. Essa observação em relação ao material *in natura* (Tabela 1), os valores reduziram 21,0; 13,1 e 10,6%, respectivamente para FDN, celulose e lignina, mostrando a eficácia dos tratamentos aditivos químicos e biológicos.

Tabela 3. Valores médios dos componentes da parede celular do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	Enzimas (%) 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
					FDN (% MS)			
0	73,6	71,2	68,4	64,2	69,4 a			
6	66,4	63,9	60,9	58,2	62,3 b	1,9	Ŷ= 70,244 - 1,466x	0,99
Médias	70,0	67,5	64,7	61,2				
					FDA (% MS)			
0	63,4 a	61,2 a	58,6 a	56,0 a	59,8	1,0	Ŷ= 63,509 - 1,237x	0,99
6	56,2 b	53,9 b	51,4 b	50,2 b	52,9		Ŷ= 56,054 - 1,035x	0,98
					Celulose (% MS)			
0	44,1	43,1	41,5	37,8	41,6 a			
6	41,6	39,8	38,0	36,7	39,0 b	3,4	Ŷ= 43,107 - 0,928x	0,98
Médias	42,9	41,5	39,7	37,3				
					Hemicelulose (% MS)			
0	10,2	10,0	9,8	8,2	9,6			
6	10,1	9,9	9,5	8,0	9,4	13,8	Ŷ= 10,462 - 0,330x	0,80
Médias	10,2	10,0	9,7	8,1				
					Lignina (% MS)			
0	17,8	17,0	16,6	16,0	16,8 a			
6	16,4	16,2	16,0	16,0	16,1 b	5,3	Ŷ= 17,036 - 0,180x	0,98
Médias	17,1	16,6	16,3	16,0				

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo Teste F ($P<0,05$). R^2 = coeficiente de determinação. C.V.(%) = coeficiente de variação.

Para os resultados do tratamento biológico com enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeiras, o teor de FDN, celulose, hemicelulose e lignina apresentaram efeito linear decrescente, com redução de 1,47; 0,93; 0,33 e 0,18 unidades percentuais, respectivamente, para cada 1% de enzimas fibrolíticas aplicadas, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas. Nos dados da FDA, a redução foi de 1,24 e 1,04 unidades percentuais para cada 1% de enzimas em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas, respectivamente para os tratamentos 0 e 6% de ureia (Tabela 3), demonstrando que as enzimas fibrolíticas foram efetivamente ativas para a melhoria da qualidade da fração fibrosa do resíduo de algodoeiras.

Os resultados do presente trabalho mostraram redução de 10,8% nos teores de FDN com o tratamento com ureia, corroborando com os trabalhos conduzidos por Grotheer et al. (1985), Dias-da-Silva et al. (1988), Reis et al. (2003), Gobbi et al. (2005) e Carvalho et al. (2006) em palhadas, feno de capim bermuda, feno de capim braquiária e bagaço de cana-de-açúcar, respectivamente.

A redução no conteúdo da FDA nos materiais amonizados está associada com a solubilização da lignina e da celulose presumidamente como um resultado da redução da cristalinidade da celulose, e também devido a sua expansão e saponificação das ligações éster entre lignina e hemicelulose (Klopfenstein et al., 1978).

Resultados semelhantes ao deste trabalho foram encontrados por Krause et al. (1998), onde verificaram que a adição de enzimas fibrolíticas à dieta alterou a composição química do volumoso, reduzindo os teores de FDN e FDA quando o produto utilizado foi diluído em água e aplicado ao alimento um dia antes do fornecimento aos animais.

Houve uma maior solubilização da celulose em relação à hemicelulose, sendo que esse comportamento pode ser justificado pelo fato de que, quando materiais volumosos são tratados com produtos alcalinos, como a ureia, as ligações intermoleculares, mais especificadamente as pontes de hidrogênio entre as moléculas de celulose, se rompem, solubilizando parte deste componente da parede celular (Van Soest, 1994). Outros autores também observaram redução no teor de celulose em fenos tratados com ureia (Grossi et al., 1993; Alfaya et al., 2002 ; Gobbi et al., 2005).

A diminuição dos teores de lignina pode ser explicada pela maior solubilização da celulose e da hemicelulose como observado neste estudo, permitindo que parte da lignina que se encontrava ligada a esta fração também fosse solubilizada.

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Lines et al., (1996), que observaram redução nos teores de lignina com o aumento no período de amonização de 9,4 para 8,6%, para feno de alfafa amonizados por uma ou duas semanas respectivamente.

Para os resultados da fração do nitrogênio (Tabela 4), houve efeito da interação ($P<0,05$) entre as doses de ureia e enzimas fibrolíticas para as variáveis de nitrogênio total (NT) e nas frações A e C. Para fração B1+B2 e B3 não houve efeito da interação ($P>0,05$).

Para os resultados do NT, observaram-se aumentos com a utilização de ureia, diferindo estatisticamente ($P<0,05$) entre os dois níveis de ureia. Já na fração A, as médias diferem entre si na medida em que aumenta os níveis de ureia da amonização, ocorrendo em todos os níveis de enzimas aplicados, fato que ocorre também nos valores do NT, prevendo este acontecimento, uma vez que a ureia como fonte de nitrogênio não-protéico, foram incorporados nos tratamentos (Tabela 4).

Os teores de NT apresentaram efeito quadrático quando não tratado com ureia e efeito linear positivo quando tratado com 6% de ureia. Para o efeito quadrático obteve-se ponto de mínima de 1,76 de enzimas fibrolíticas, enquanto que o efeito linear

encontrou-se um aumento de 0,134 unidades percentuais para cada 1% de enzimas aplicadas, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas.

Tabela 4. Fracionamento dos componentes nitrogenados do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	Enzimas (%) 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
Nitrogênio Total (%MS)								
0	1,3 b	1,3 b	1,3 b	1,6 b	1,4	4,2	$\hat{Y}$= 1,301 - 0,067x + 0,019x^2	0,96
6	3,3 a	3,6 a	3,8 a	4,0 a	3,6		$\hat{Y}$= 3,233 + 0,134x	0,98
Fração A (% NT)								
0	0,9 b	1,0 b	1,0 b	1,2 b	1,0	5,9	$\hat{Y}$= 0,902 + 0,039x	0,75
6	2,5 a	2,8 a	3,0 a	3,2 a	2,9		$\hat{Y}$= 2,490 + 0,119x	0,98
Fração B1+B2 (% NT)								
0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1 b			
6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3 a	29,3	$\hat{Y}$= 0,190	
Médias	0,20	0,16	0,20	0,20				
Fração B3(% NT)								
0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1 a			
6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 a	37,0	$\hat{Y}$= 0,066	
Médias	0,1	0,1	0,1	0,1				
Fração C (% MS)								
0	0,2 b	0,2 b	0,2 b	0,2 b	0,2	4,6	$\hat{Y}$= 0,190	
6	0,4 a	0,4 a	0,5 a	0,4 a	0,4		$\hat{Y}$= 0,388 + 0,040x - 0,006x^2	0,98

A: nitrogênio não protéico, B1 + B2: proteína verdadeira de degradação enzimática rápida e intermediária, B3: proteína verdadeira de degradação enzimática lenta, C: proteína indigestível. Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. R^2 = Coeficiente de Determinação.

De maneira geral, os valores de N podem ser aumentados de 0,6 a 1,0 unidades percentuais pela amonização com ureia (Berger et al., 1994). O aumento nos teores de PB pode ser explicado pela adição de nitrogênio não-protéico (NNP), em doses crescentes, via amonização. De acordo com Souza et al. (2002), o N é retido por meio de uma reação da amônia com água, contida nos materiais, ou uma reação de amoniólise entre a amônia e um éster, produzindo amida.

Esse aumento tem sido verificado em resíduos agroindustriais (Faria et al., 2008) e fenos de baixa qualidade, quando tratado com ureia (Reis Júnior et al., 2011). Incrementos nos teores de NT com uso de ureia, também, foram encontrados por Carvalho et al. (2006) ao trabalharem com bagaço de cana-de-açúcar, Fadel et al. (2003) com palha de arroz, e Gobbi et al. (2005) com feno de *brachiaria*.

Na fração A, à aplicação das enzimas fibrolíticas apresentaram efeito linear positivo quando os mesmos foram utilizados 0 e 6% de ureia, com aumento de 0,04 e 0,12 unidades percentuais para cada 1% de enzimas, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas.

Na fração B1+B2 (proteína verdadeira de rápida degradação) não houve efeito significativo com o tratamento enzimático. Já os dados da fração B3 (proteína de lenta degradação) não apresentou efeito significativo, nem do tratamento com ureia e nem com as enzimas fibrolíticas.

Ressalta-se que o aumento nas frações B1+B2 pode ser decorrente do efeito proporcional da inclusão do nitrogênio, que aparece na forma de NNP (Fração A). Conforme Pereira & Rossi (1994), essas frações representam a porção de proteína verdadeira da forragem, sendo pouco afetadas pela inclusão de fontes externas de nitrogênio na forma de ureia ou amônia. Maiores percentuais dessa fração são melhores utilizados pelos microrganismos ruminais para a síntese de proteína microbiana, inclusive por microrganismos fibrolíticos, visto que, conforme esclarece Kozloski (2002), a proteína verdadeira é constituída de aminoácidos de cadeia ramificada, dos quais necessitam as bactérias celulolíticas, reconhecidas pela degradação desse carboidrato estrutural (celulose), componente da fração fibrosa de vegetais.

Enquanto na fração C (proteína indigestível) há um aumento nos valores quando os mesmo foram tratados com ureia, em relação ao sem tratamento, em todos os níveis de enzimas. Para avaliação das enzimas na fração C, ocorre um efeito quadrático com a inoculação das enzimas fibrolíticas quando pré-tratada com ureia (6%), tendo seu ponto de máxima de 3,33% de enzimas.

A fração C representa a proteína associada à lignina e é indigestível para os microrganismos ruminais. Neste aspecto, Bertipaglia et al. (2005) e Roth et al. (2010) observaram diminuição dos teores da fração C, na amonização de fenos de brachiarias. Assim, a diminuição da fração C, com a adição de fonte de amônia, no tratamento de alimentos volumosos, é benéfica do ponto de vista de melhoria do valor nutritivo dos mesmos, uma vez que, aumenta a quantidade de nitrogênio disponível para digestão.

Aumentos nos teores da fração C podem ser explicados pela adição da ureia que é fonte de nitrogênio não protéico e pode incorporar-se na parede celular. Estes resultados concordam com os obtidos por Reis et al. (2001) em trabalhos conduzidos com feno de gramíneas tropicais onde foi detectada elevação nos teores de NT, de NIDN e de NIDA em resposta a amonização.

Segundo Rosa et al. (1998) a elevação nos teores de NIDA (fração C da proteína) com a amonização sugere reação de amoniólise, uma vez que o nitrogênio foi retido na fração insolúvel em detergente ácido (celulose e lignina), sendo de suma importância o

conhecimento da modificação no teor de NIDA, uma vez que o nitrogênio presente nessa forma apresenta-se indisponível para o animal.

Na maioria dos estudos sobre a amonização de volumosos (Carvalho et al., 2006; Roth et al. 2010) tem sido verificada a elevação nos teores dos compostos nitrogenados, como NIDN e NIDA (%MS), fato este relacionado com o conteúdo de nitrogênio (N) dos produtos utilizados como a ureia.

Os resultados apresentados das frações dos carboidratos apresentaram interação (P<0,05) entre as doses de ureia e de enzimas para os carboidratos totais e carboidratos não fibrosos (Tabela 5). Independente da dose de enzimas fibrolíticas, observou-se efeito significativo do uso da ureia (P<0,05), em todas as variáveis respostas.

Tabela 5. Fracionamento dos carboidratos do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	**Enzimas (%)** 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
					CT (%MS)			
0	83,9 a	84,6 a	84,3 a	82,1 a	83,7	1,3	$\hat{Y}$= 83,845 + 0,809x - 0,182x^2	0,99
6	72,1 b	69,2 b	68,6 b	66,0 b	69,0		$\hat{Y}$= 71,814 - 0,946x	0,95
					CNF (Fração A + B1) (%MS)			
0	12,9 b	16,2 b	18,1 b	20, 6 b	16,9	7,2	$\hat{Y}$= 12,175 + 1,253x	0,99
6	21,4 a	21,0 a	23,4 a	23,5 a	22,3		$\hat{Y}$= 21,055 + 0,427x	0,73
					Fração B2 (%MS)			
0	28,3	27,7	26,4	23,1	26,4 a			
6	22,1	20,0	17,5	15,0	18,7 b	10,8	$\hat{Y}$= 25,590 - 1,021x	0,97
Médias	25,2	23,9	22,0	19,1				
					Fração C (% MS)			
0	42,7	40,7	39,8	38,5	40,4 a			
6	39,3	38,9	38,4	38,3	38,8 b	5,3	$\hat{Y}$= 40,887 - 0,432x	0,98
Médias	41,0	39,8	39,1	38,4				

CT: carboidratos totais; A: fração rapidamente degradável; B1: fração com degradação intermediária; B2: fração lentamente degradável; C: fração indigestível. Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. R^2 = Coeficiente de Determinação.

Na avaliação do tratamento químico com ureia, os resultados médios de CT e CNF mensurados neste experimento diferiram entre si (P<0,05) com a amonização. Os valores de carboidratos totais são influenciados pelos teores de PB, EE e MM, haja vista a utilização dessas variáveis para determinação dos mesmos. Portanto, no tratamento de amonização ocorreram os maiores valores de PB, devido à contribuição da ureia em aumentar o teor de nitrogênio do resíduo, ocorreu redução dos carboidratos totais.

Os resultados médios de CT para respostas das enzimas apresentaram efeito quadrático (ponto de máxima de 2,22% de enzimas) e linear decrescente (redução de 0,94 unidades percentuais), quando pré-tratados com 0 e 6% de ureia. Já os resultados

médios dos CNF apresentaram efeito linear positivo, com aumentos de 1,25; e 0,43 unidades percentuais para cada 1% de enzimas inoculadas, quando pré-tratados com 0 e 6% de ureia, respectivamente. Levando em consideração que os valores dos CNF do tratamento com ureia foram estimados pelo método proposto por Hall (2000), caso contrário estaria subestimando os valores dos CNF, pelo aumento da massa da PB causada pela adição do nitrogênio não-protéico da ureia.

Os CNF que correspondem às frações A+B1 são referentes à concentração de açúcares solúveis com rápida degradação ruminal e amido, frutosanas, galactanas, β-glucanas e pectina, com degradação intermediária, respectivamente. O aumento dos CNF é justificado pela redução dos componentes fibrosos, em especial a celulose, resultando em decréscimo da fração FDNcp, e quanto mais acentuada for à redução desta fração da FDNcp, maior foi o conteúdo dos CNF, uma vez que os CNF é obtido por diferença dos FDNcp.

Para os valores médios da fração B2, houve um efeito da amonização ($P<0,05$), sendo que o tratamento com ureia apresentou redução das médias em relação ao material não tratado. Para efeitos do tratamento enzimático, há uma redução de 1,02 unidades percentuais para cada 1% de enzima aplicada, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas.

Esta fração representa a fração correspondente à fibra potencialmente degradável, ou seja, são polissacarídeos que compõe a parede celular, como celulose e hemicelulose. Ficou demonstrado no presente estudo a eficiência da ação combinada da ureia e enzimas fibrolíticas em solubilizar a parte fibrosa (celulose e hemicelulose), favorecendo a redução da fração e aumento dos carboidratos fibrosos. Segundo Russel et al. (1992), alimentos com elevado teor da fração B2 provocam maior demanda de nitrogênio não-protéico para atender aos requisitos de microrganismos fermentadores de carboidratos estruturais.

Os valores da fração C, que representa a fração indigestível dos carboidratos, diferiram significativamente entre os tratamentos 0 e 6% e ureia. Enquanto que o efeito das enzimas propiciou uma redução de 0,43 unidades percentuais para 1% de enzima aplicada, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas, evidenciando interferência da adição de ureia e enzimas fibrolíticas sobre este parâmetro, com redução da lignina.

Os valores médios estimados de NDT e Energia não apresentaram interação significativa (P>0,05) entre as doses de ureia e enzimas (Tabela 6).

Tabela 6. Teores médios de nutrientes digestíveis totais (NDT em %MS), energia digestível (ED), energia metabolizável (EM), energia líquida de mantença (ELm), energia líquida de ganho (ELg) e energia líquida de lactação (EL_{lact}) em Mcal/Kg de MS do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	Enzimas (%) 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
					NDT[1]			
0	46,2	47,6	47,8	48,4	47,5 b			
6	57,6	57,2	57,9	57,7	57,6 a	2,2	Ŷ= 51,953 + 0,199x	0,97
Médias	51,9	52,4	52,9	53,1				
					NDT[2]			
0	39,8	41,2	41,5	42,9	41,3 b			
6	53,8	53,7	54,9	55,6	54,5 a	2,3	Ŷ= 46,723 + 0,400x	0,99
Médias	46,8	47,5	48,2	49,2				
					ED			
0	1,7	1,8	1,8	1,9	1,8 b			
6	2,5	2,5	1,6	2,6	2,6 a	2,3	Ŷ= 2,121 + 0,024x	0,98
Médias	2,1	2,2	2,2	2,3				
					EM			
0	1,3	1,4	1,4	1,5	1,4 b			
6	2,1	2,1	2,2	2,2	2,1 a	2,8	Ŷ= 1,697 + 0,024x	0,98
Médias	1,7	1,7	1,8	1,8				
					ELm			
0	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6 b			
6	1,2	1,2	1,3	1,4	1,3 a	5,5	Ŷ= 0,848 + 0,024x	0,98
Médias	0,9	0,9	0,9	1,0				
					EL_g			
0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1 b			
6	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7 a	9,9	Ŷ= 0,341 + 0,015x	0,91
Médias	0,3	0,4	0,4	0,4				
					EL_{lact}			
0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9 b			
6	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2 a	2,5	Ŷ= 1,024 + 0,001x	0,99
Médias	1,0	1,0	1,1	1,1				

[1]$NDT_{Detmann}$ - Nutrientes digestíveis totais estimado (Detmann et al., 2010);[2]NDT_{NRC} – Nutrientes digestíveis totais estimados (NRC, 2001). Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. R^2 = Coeficiente de Determinação.

Em todos os parâmetros analisados ocorreram aumentos nos valores médios com o tratamento da ureia em relação ao material não tratado. Esse aumento ocorreu devido à elevação nos teores da PB, CNF e pela redução da FDN e componentes da parede celular (Tabelas 3, 4 e 5), sendo os mesmos utilizados nas equações.

Quanto ao tratamento com enzimas, em todos os parâmetros avaliados ocorreu aumento linear de: 0,20; 0,40; 0,02; 0,02; 0,02; 0,015 e 0,001 unidades percentuais para cada 1% de enzima aplicada, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas, respectivamente para $NDT_{Detmann}$, NDT_{NRC}, ED, EM, EL_m, EL_g e EL_{lact}.

Visualmente, as diferenças entre os modelos propostos pelo NRC (2001) e Detmann et al. (2010), para estimativa dos teores de NDT, são perceptíveis (Tabela 6). Entretanto, Silva et al. (2007) e Azevêdo et al. (2011) observaram que o modelo do NRC (2001) tende a subestimar a predição de algumas frações, como o EE aparentemente digestível (EEad), utilizadas na estimativa do NDT para alimentos em condições tropicais.

Embora o NRC (2001) seja um sistema amplamente difundido e, teoricamente, adequado para o uso em condições temperadas, esse conjunto de equações não tem apresentado eficiência de predição satisfatória quando aplicado a alimentos obtidos em condições tropicais, tornando as estimativas substancialmente desviadas dos valores observados *in vivo* (Rocha Júnior et al., 2003; Costa et al., 2005; Oliveira et al. 2007; Silva et al., 2007).

Considerando que o modelo proposto por Detmann et al. (2010) para estimativa dos teores de NDT foi desenvolvido exclusivamente com bases em informações de alimentos produzidos em condições brasileiras, Rocha Júnior et al. (2003), Detmann et al. (2004), Pina et al. (2006), Oliveira et al. (2007) e Azevêdo et al. (2011) sugerem que esse modelo seja mais adequado para estimar os teores dos NDT de co-produtos agroindustriais.

Segundo Oliveira et al. (2010) o conteúdo de NDT é importante, uma vez que a energia é frequentemente um dos fatores mais limitantes na nutrição de ruminantes. De acordo com o NRC (2001), o conteúdo de energia dos alimentos é negativamente correlacionado ao teor de FDN, devido à menor digestibilidade desta fração.

O NDT e os valores de energia podem viabilizar a descrição dos efeitos ingestivos e a disponibilidade digestiva dos nutrientes e da ração como um todo (NRC, 2001). Ainda de acordo com NRC (2001) o sistema de EL fornece valores de disponibilidade de energia muito mais precisos que o NDT, mas este sistema ainda permanece porque os valores de EL são difíceis de serem obtidos e também porque há grande quantidade de informações disponíveis sobre o NDT. Assim, quando o NDT ou a ED são conhecidos, todas as outras expressões de energia podem ser calculadas, usando-se equações apropriadas, o que vem destacar a importância de equações que estimam essas variáveis.

Para os resultados da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), foi observado que os valores médios ($P<0,05$) aumentaram com o tratamento químico da

ureia. Para o fator enzimas ocorreu um efeito linear positivo (P<0,05) com aumento de 1,467 unidades percentuais, para cada 1% de enzimas aplicadas, em relação ao tratamento sem aplicação de enzimas, no tratamento do resíduo de algodoeira (Tabela 7).

Tabela 7. Valores médios da digestibilidade in vitro da matéria seca do resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	**Enzimas (%)**				Médias	C.V(%)	Equação	R^2
	0	2	4	6				
Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%MS)								
0	45,2	47,3	50,7	52,6	49,0 b			
6	45,7	48,7	52,5	55,5	50,6 a	3,1	$\hat{Y}$= 45,375 + 1,467x	0,99
Médias	45,5	48,0	51,6	54,1				

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo Teste F (P<0,05). R^2 = coeficiente de determinação. C.V.(%) = coeficiente de variação.

A melhoria da DIVMS ocorreu devido à redução dos componentes da parede celular, além do aumento da concentração de nitrogênio na forma de ureia que favoreceu um ambiente mais propício para as bactérias crescerem e se multiplicarem, o que aumenta a colonização e melhora a fermentação do substrato da matéria seca, consequentemente aumento da DIVMS.

Fernandes et al., (2002), observaram aumentos na digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) com a amonização de fenos de Brachiaria decumbens com NH_3 (3,0% na MS) ou ureia (5,0% na MS), sendo observado aumento na DIVMS de 20,1 e 12,2% em relação ao tratamento controle, respectivamente. O incremento provavelmente foi devido às modificações na composição química da fração fibrosa, como a diminuição no conteúdo de FDN e de hemicelulose o que certamente disponibilizou carboidratos prontamente digestíveis para os microrganismos do rúmen.

Em experimentos com ureia, Carvalho et al. (2006) observaram aumentos de 13,78; 24,20 e 32,42%, na DIVMS dos bagaços de cana com a aplicação de 2,5; 5,0 e 7,5% de ureia em relação ao bagaço sem ureia e Gobbi et al. (2005), utilizando 7% de ureia (base seca) no feno de *Brachiaria decumbens* colhida no estádio de pós-florescimento, observaram que este nível de ureia, proporcionou a máxima digestibilidade *in vitro* da matéria seca (68,9%).

Utilizando níveis de enzimas fibrolíticas (5,0 e 7,5 g/kg/MS) próximos aos utilizados neste experimento, Tang et al. (2008) concluíram que estes níveis enzimáticos proporcionaram os maiores valores de DIVMS e DIVMO em palhadas de cereais, e

Wang et al. (2004) concluíram que as enzimas aumentaram a taxa de digestão da palha de trigo tratada com álcali, *in vivo* e *in situ* e aumentaram a extensão da digestão *in vivo*.

Na literatura tem-se observado que a aplicação de enzimas fibrolíticas exógenas após tratamento alcalino em palhadas, aumenta a taxa e a extensão da digestão da MS (Wang et al., 2004). Este sinergismo provavelmente ocorre devido à remoção de barreiras estruturais realizada pelo álcali, facilitando a ação das enzimas fibrolíticas, onde propiciaria maior disponibilidade de açúcares solúveis, para consequentemente, facilitar a colonização e o crescimento dos microrganismos ruminais (Wang & McAllister, 2002).

CONCLUSÕES

Os tratamentos utilizando a associação da uréia e enzimas são eficientes na redução dos componentes da parede celular, principalmente a celulose e lignina, melhorando a qualidade da fração fibrosa e aumento na digestibilidade da matéria seca.

A amonização com ureia proporciona aumento no nitrogênio total e na proteína verdadeira, melhorando a fração nitrogenada do resíduo de varredura de algodoeira.

A ação conjunta da ureia e das enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira reduz as frações B2 e C dos carboidratos, sendo que a amonização e a hidrólise enzimática aumenta os carboidratos não fibrosos. Estes tratamentos são eficazes para aumentar o NDT e do conteúdo energético, melhorando o sincronismo entre nitrogênio e carboidratos, liberando assim mais energia para o ruminante.

Recomendar-se, então, a amonização com uréia (6% na MS) combinado com enzimas fibrolíticas (6% na MS), com melhoria nos valores DIVMS, FDN, lignina e nitrogênio do resíduo de algodoeira.

REFERÊNCIAS

ADESOGAN, A.T. Improving Forage Quality and Animal Performance with Fibrolytic Enzymes. 16th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, 2005. Gainesville. **Proc**... Florida: EUA. p.91-107.

AIBA – ASSOCIAÇÃO DOS IRRIGANTES DO OESTE DA BAHIA. Anuário da região oeste da Bahia: safra 2013/14. Barreiras:AIBA, 2014. 112p. Disponível em: <http://www.aiba.org.br/informaiba/anuario_regiao_oeste_bahia_2013-2014.pdf> Acesso em: 15-11-2014.

ALFAYA, H., SUÑE, L.N.P., SIQUEIRA, C.M.G., SILVA, D.J.S.; SILVA, J.B.; PEDERZOLLI, E.M.; LÜEDER, W.E. Efeito da amonização com ureia sobre os parâmetros de qualidade do feno do capim-annomi2 (*Eragrostis plana Nees*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, (suplemento) p.842-851, 2002.

ANKOM TECHNOLOGY - *In Vitro* True Digestibility using the DAISY II Incubator [on line], 2010. Disponível em < http:// www.ankom.com> Acesso em 12 de outubro de 2011.

ARRIOLA, K.G.; KIM, S.C.; STAPLES, C.R.; ADESOGAN, A.T. Effect of fibrolytic enzyme application to low- and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science,** v.94, p.832–841, 2011.

AZEVÊDO, J.A.G.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; PINA, D.S.; PEREIRA, L.G.R.; OLIVEIRA, K.A.M.; FERNANDES, H.J.; SOUZA, N.K.P. Predição de frações digestíveis e valor energético de subprodutos agrícolas e agroindustriais para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.2, p.391-402, 2011.

BAILEY, M. J.; BIELY, P.; POUTANEN, K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. **Journal of Biotechnology**, v.23, n.3, p.257–270, 1992.

BERGER, L.L.; FAHEY, G.C.; BOURQUIM, L.O.; TITGEMEYER, E.C. Modification of forage quality after harvest. In: FAHEY, G.C (Eds.). **Forage quality, evaluation e utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.922-966.

BERTIPAGLIA, L.M.A.; LUCA, S.; MELO, G.P.; REIS, R.A. Avaliação de fontes de urease na amonização de fenos de *Brachiaria brizantha* com dois teores de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.378-386, 2005.

CÂNDIDO, M.J.D.; NEIVA, J.N.M.; PIMENTEL, J.C.M.; VASCONCELOS, V.R.; SAMPAIO, E.M.; MENDES NETO, J. Avaliação do valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar amonizada com ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.938-935, 1999.

CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V.; VELOSO, C. M.; MAGALHÃES, A.F.; FREIRE, M.A.L.; SILVA, F.F.; SILVA, R.R.; CARVALHO, B.M.A. Valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar amonizado com quatro doses de ureia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.1, p.125-132, 2006.

COSTA, M.A.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; PAULINO, P.V.R.; CHIZZOTTI, M.L.; PAIXÃO, M.L. Validação das equações do NRC (2001) para predição do valor energético de alimentos nas condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.280-287, 2005.

DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; PONCIANO, N.J.; FERNANDES, A.M. Validação de equações preditivas da fração indigestível da fibra em detergente neutro em gramíneas tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1866-1875, 2004.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; PINA, D.S.; PAULINO, M.F.; MAGALHÃES, A.L.R.; FIGUEIREDO, D.M.; PORTO, M.O.; CHIZZOTTI, M.L. Reparametrização do modelo baseado na lei de superfície para predição da fração digestível da fibra em detergente neutro em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.155-164, 2007.

DETMANN, E.; MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F.; HENRIQUES, L.T. Desenvolvimento de um sub-modelo bicompartimental para estimação da fração digestível da proteína bruta em bovinos a partir da composição química dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.12, p.2215-2221, 2008.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. Predição do valor energético de dietas para bovinos a partir da composição química dos alimentos. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L. et al. (Eds.). **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 2.ed. Viçosa, MG: DZO-UFV, 2010. p.47-64.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.V.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S., LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. INCT – Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2012. 214 p.

DIAS-DA-SILVA, A.A., FERREIRA, A.M., GUEDES, C.V.M. Effects of moisture level, treatment time and soya bean addition on the nutritive value of urea-treated maize stover. **Animal Feed Science and Technology,** v.19, p.67-77, 1988.

FADEL, R.; ROSA, B.; OLIVEIRA, I.P.; OLIVEIRA, J.D.S. Avaliação de diferentes proporções de água e de ureia sobre a composição bromatológica da palha de arroz. **Ciência Animal Brasileira**, v.4, n.2, p.101-107, 2003.

FARIA, M.M.S.; JAEGER, S.M.P.L.; OLIVEIRA, G.J.C.; OLIVEIRA, R.L.; LEDO, C.A.S.; SANTANA, F.S. Composição bromatológica do co-produto do desfibramento do sisal tratado com ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.377-382, 2008.

FERNANDES, L.O.; REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; LEDIC, I.L.; MANZAN, R.J. Qualidade do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. submetido ao tratamento com amônia anidra ou ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1325-1332, 2002.

GOBBI, K.F.. GARCIA, R.; GARCEZ NETO, A.F.; PEREIRA, O.G.; BERNARDINO, F.S.; ROCHA, F.C. Composição química e digestibilidade *in vitro* do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. tratado com ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.720-725, 2005.

GROSSI, S.F.; REIS, R.A.; EZEQUIEL, J.M.B.; RODRIGUES, L.R.A. Tratamento de volumosos com amônia anidra ou com ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.22, n.4, p.651-660, 1993.

GROTHEER, M.D., CROSS, D.L., GRIMES, L.W. Effect of moisture level and injection ammonia on nutrient quality and preservation of coastal bermuda grass hay. **Journal of Animal Science,** v.61, n.6, p.1370-1377, 1985.

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

KLOPFENSTEIN, T.J. Chemical treatment of crops residues. **Journal Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 841-848,1978.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002. 140p.

KRAUSE, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; FARR B.I.; NØRGAARD P. Fibrolytic enzyme treatment of barley grain and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2912-2920, 1998.

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.

LINES, L.W., KOCH, M.E. & WEISS, W.P. Effect of ammoniation on the chemical composition of alfalfa hay baled with varying concentrations of moisture. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.11, p.2000-2004, 1996.

MALLMANN, G.M.; PATINO, H.O.; SILVEIRA, A.L.F.; MEDEIROS, F.S.; KNORR, M. Consumo e digestibilidade de feno de baixa qualidade suplementado com nitrogênio não protéico em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.331-337, 2006.

MIZUBUTI, I.Y.; RIBEIRO, E.L.A.; PEREIRA, E.S.P.; PEIXOTO, E.L.T.; MOURA, E.S.; PRADO, O.P.P.; BUMBIERIS JUNIOR, V.H.; SILVA, L.D.F.; CRUZ, J.M.C. Cinética de degradação ruminal de alimentos proteicos pela técnica in vitro de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.1, p.555-566, 2014.

MOREIRA, P. C.; REIS, R. B.; REZENDE, P. L. P.; WASCHECK, R. C.; MENDONÇA, A. C.; DUTRA, A. R. Produção cumulativa de gases e parâmetros de France avaliados pela técnica semiautomática in vitro de fontes de carboidratos de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p.452- 462, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**.7.ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.

OLIVEIRA, A.S.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; ASSIS, A.J.; TEIXEIRA, R.M.A.; VALADARES, R.F.D.; PINA, D.S.; OLIVIERA, G.S. Substituição do milho por casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: consumo, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1172-1182, 2007.

OLIVEIRA, L.B.; PIRES, A.J.V.; CARVALHO, G.G.P.; RIBEIRO, L.S.O.; ALMEIDA, V.V.; PEIXOTO, C.A.M. Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo Sudão, sorgo forrageiro e girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.61-67, 2010.

PAIVA, J.A.J.; GARCIA, R.; QUEIROZ, A.C. Efeito dos níveis de amônia anidra e períodos de amonização sobre os teores de compostos nitrogenados e retenção de nitrogênio na palhada de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, p.672-682, 1995.

PEREIRA, J.R.A.; ROSSI JR., P.P. **Manual de avaliação nutricional de alimentos**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1994. 34p.

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D.; CAMPOS, J.M.S.; MORAES, K.A.K.; OLIVEIRA, A.S.; PAIXÃO, M.L. Efeitos de indicadores e dias de coleta na digestibilidade dos nutrientes e nas estimativas do valor energético de alimentos para vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2461-2468, 2006.

QUADROS, D.G.; ANDRADE, A.P.; FIGUEIREDO, M.P.; SOARES, D.S.; SANTOS, D.A.; JUNIORM O.F.; ROCHA, J.R.P.; ROSEIRA, J.P.S. Composição bromatológica do resíduo de algodoeiras tratado com uréia e enzimas fibrolíticas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49, 2012, Brasília. **Anais**... Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012. (CD-ROM).

REIS JÚNIOR, L.C.V.; ALMEIDA, J.C.C; ARAÚJO, R.P.; LISTA, F.N.; RIBEIRO, E.T.; MENDONÇA, D.C.; ABREU, J.B.R.; ARAÚJO, S.A.C.; RIBEIRO, T.P. Qualidade de feno de capim coast-cross sob níveis de ureia e períodos de amonização. **Revista de Ciências da Vida**, v.31, n.1, p.71-80, 2011.

REIS, R.A.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; MOREIRA, A.L.; SILVA, E.A. Valor nutritivo do feno de capim coast-cross (*Cynodon dactylon* L. Pers.) submetido à amonização. **ARS Veterinária**, v.19, p.143-149, 2003.

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. **Amonização de volumosos**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP,1993. 22p.

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; RESENDE, K.T.; PEREIRA, J.R.A.; RUGGIERI, A.C. Avaliação de fontes de amônia para o tratamento de fenos de gramíneas tropicais. Compostos Nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.682-686, 2001.

ROCHA JÚNIOR, V.R.; VALADARES FILHO, S.C.; BORGES, A.M.; DETMANN, E.; MAGALHÃES, K.A.; VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; CECON, P.R. Estimativa do valor energético dos alimentos e validação das equações propostas pelo NRC (2001). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.480-490, 2003.

ROSA, B.; REIS, R.A.; RESENDE, K.T.; KRONKA, S.N.; JOBIM, C.C. Valor nutritivo do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. basilisk submetido a tratamento com amônia anidra ou ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.815-822, 1998.

ROTH, M.T.P.; REIS, R.A.; RESENDE, F.D.; SIQUEIRA, G.R.; PIRES, A.J.V.; BERTIPAGLIA, L.M.A. Chemical treatment of post-harvest Marandu grass seed residues with different moisture contents. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.3, p.479-486, 2010.

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G.; VAN SOEST, P.J.; SNIFFEN, C.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation**. Journal of Animal Science,** Madison, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

SAS, **Statistical Analysis System.** Software, version 9.1.3 Cary: SAS Institute, 2002.

SCHUERCH, C.; DAVIDSON, R.W. Plasticizing wood with ammonia-control of color changes. **Journal of Polymer Science**, Part C. v.36, p.231-239, 1971.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária, 2005. 235p.

SILVA, P.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CECON, P.R.; DETMANN, E.; PAIXÃO, M.L. Valor energético do capim-elefante em diferentes idades de rebrota e estimativa da digestibilidade in vivo da fibra em detergente neutro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.3, p.711-718, 2007.

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.

SOUZA, A.L., GARCIA, R., PEREIRA, O.G., CECON, P.R.; PIRES, A.V.; LOURES, D.R.S. Valor nutritivo da casca de café tratada com amônia anidra. **Revista Ceres**, v.286, n.49, p.669-681, 2002.

TANG, S.X.; TAYO, G.O.; TAN, Z.L.; SUN, Z.H.; SHEN, L.X.; ZHOU, C.S.; XIAO, W.J.; REN, G.P.; HAN, X.F.; SHEN, S.B. Effects of yeast culture and fibrolytic enzymes supplementation on *in vitro* fermentation characteristics of low-quality cereal straws. **Journal of Animal Science**, v.86, p.1164-1172, 2008.

WANG, Y.; McALLISTER, T.A. Investigation of exogenous fibrolytic enzyme activity on barley straw using *in vitro* incubation. **Journal of Animal Science**, v.80, p.316, 2002 (Suppl. 1).

WANG, Y.; SPRATLING, B.M.; ZOBELL, D.R.; WIEDMEIER, R.D.; McALLISTER, T.A. Effect of alkali pretreatment of wheat straw on the efficacy of exogenous fibrolytic enzymes. **Journal of Animal Science**, v.82, p.198-208, 2004.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; St. PIERRE, N.R. A theoretically based model for predicting total digestible nutrient values of forage and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, v.39, p.95-110, 1992.

WOOD, T. M.; BHAT, M. K. Methods for measuring cellulase activities. In: W. A. Wood and S. T. Kellogg. Methods in enzymology. Academic Press Inc., London, UK, v. 160, p.87-112, 1988.

ZANINE, A.M; SANTOS, E.M., FERREIRA, D.J.; PEREIRA, O.G. Efeito de níveis de ureia sobre o valor nutricional do feno de capim - Tanzânia. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n.2, p.333-340, 2007.

IV – CAPÍTULO II

DEGRADABILIDADE E CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO RUMINAL*IN VITRO*, DO RESÍDUO DE ALGODOEIRA TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS

Resumo: Objetivou-se avaliar a degradabilidade e a cinética da fermentação ruminal *in vitro*, utilizando a técnica semiautomática de produção de gases *in vitro* do resíduo de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com duas doses de ureia (0 e 6%) e quatro doses de enzimas (0, 2, 4 e 6%), ambas com base na MS, com quatro repetições. Para o tratamento químico, a ureia foi dissolvida em água e calculada a quantidade de água para elevar a umidade do material para 25%. A mistura de enzimas fibrolíticas foi composta de 75% de celulase e 25% de hemicelulase. Na avaliação da produção de gases, em que a pressão foi mensurada 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação. Para avaliar a degradabilidade ruminal da matéria seca e fração fibrosa, o material foi incubado em sacos de filtro F57, utilizando uma incubadora, nos tempos 0 (lavagem direta), 6, 12, 24, 48, 96 e 120 horas. O volume máximo de produção de gases da fase rápida (Vf1) diferiu para os tratamentos com amonização com e sem uréia. Para a taxa específica de degradação da fração rápida (Kd1) não houve diferença significativa entre os tratamentos. Na produção total de gases houve efeito dos tratamentos químico e biológico. Os resultados dos parâmetros da degradabilidade ruminal da MS não apresentaram interação para nenhum parâmetro. A fração “b” e “c” observou-se aumento com adição de ureia, mas houve redução para a degradabilidade efetiva a 5 e 8%/h com a adição de ureia. O tratamento enzimático aumentou linearmente os parâmetros da degradabilidade, exceto para a fração solúvel. A degradabilidade da fração fibrosa foi melhorada, com maior atuação das enzimas fibrolíticas, com aumento fração potencialmente degradável. A ação combinada de ureia e enzimas fibrolíticas apresentou um incremento na produção de gases, com melhorias na degradação dos carboidratos fibrosos e não fibrosos.

Palavras – chave: degradação ruminal, produção de gás, tratamento de volumoso.

DEGRADABILITY AND KINETICOF THE*IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION, THE COTTON INDUSTRIAL PROCESSING RESIDUE TREATED WITH UREA AND ENZYMES FIBROLYTIC

Abstract: The present study aimed to evaluate the degradability and *in vitro* ruminal fermentation kinetic, using the semi-automatic technique of in vitro gas production of the cotton industrial processing residue treated with urea and fibrolytic enzymes. A completely randomized design in a 2 x 4 factorial design was used, with two levels of urea (0 and 6%) and four levels of enzymes (0, 2, 4 and 6%), based on DM, with four replications. For the chemical treatment, the urea was dissolved in water and calculating the amount of water to raise the moisture to 25% of the material. The fibrolytic enzyme mixture consisted of 75% of cellulase and hemicellulase 25%. In the evaluation of gas production, the gas pressure was measured 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72, 96 and 120 hours after inoculation. To evaluate the ruminal degradability of dry matter and fiber fraction, the material was incubated in F57 filter bags, using an incubator, at 0 (direct washing), 6, 12, 24, 48, 96 and 120 hours. The maximum volume of gas production of fast phase (Vf_1) differed for the treatments with and without urea ammoniation. For specific degradation rate of the fast fraction (Kd_1) there was no significant difference between treatments. In total gas production was no effect of chemical and biological treatments. The results of the MS of the degradability parameters showed no interaction with any parameter. The fraction "b" and "c" was observed with the addition of urea increased, but decreased for the effective degradation of 5 and 8%/h with the addition of urea. The enzymatic treatment increased linearly parameters degradability, except for the soluble fraction. The degradability of the fiber fraction was improved, with greater activity of fibrolytic enzymes, increasing potentially degradable fraction. The combined action of urea and fibrolytic enzymes showed an increase in gas production, with improvements in the degradation of fibrous and non-fibrous carbohydrates.

Key words: ruminal degradation, gas production, treatment of roughage.

INTRODUÇÃO

A Bahia é destaque na produção de algodão, se posicionando como segundo maior produtor nacional, gerando anualmente grande variedade e quantidade de resíduos agroindustriais. No oeste da Bahia estão concentradas quase 95% da área plantada do Estado, com 308 mil hectares cultivados e uma produção de 1,25 milhão de toneladas de algodão em capulho (501,7 mil toneladas em pluma e 677,3 mil toneladas em caroço) (AIBA, 2014).

Amonização é um dos tratamentos químicos mais estudados para melhorar a qualidade da forragem. A amonização melhora a digestibilidade da forragem devido à ação hidrolítica de amônia em ligações entre lignina e polissacarídeos estruturais, o que aumenta a matéria orgânica (MO) potencialmente digestível para utilização pelos microrganismos ruminais (Barrios-Urdaneta & Ventura, 2002). Amonização também aumenta a concentração de proteína bruta (PB) de forrageiras através da fixação de N aplicadas (Weiss & Underwood, 1995).

Entretanto, o uso de enzimas alimentares tem sido utilizado para melhorar uma grande variedade de dietas animal (Dean et al., 2008). A sua eficácia é em parte devido à melhoria da hidrólise das fibras, aumentando a digestibilidade e consumo voluntário (Elwakeel et al, 2007; Eun & Beauchemin, 2008; Pinos-Rodríguez et al., 2008; Reddish & Kung Jr, 2007). Porém, a maioria dos estudos que avaliaram a aplicação de enzimas fibrolíticas na alimentação de ruminantes, utilizaram forrageiras de clima temperado, consequentemente, não há informações sobre a forma de aplicação de enzimas fibrolíticas afetando a qualidade de forrageiras tropicais.

Outras formas de se determinar a eficácia da amonização e hidrolise enzimática é por meio da avaliação da cinética da degradação ruminal *in vitro*. Para tanto, a quantificação do volume de gases produzidos durante a fermentação de substratos, através da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases, permite avaliar a cinética de fermentação de alimentos utilizados na nutrição de ruminantes (Theodorou et al., 1994), possibilitando diferenciar a contribuição das frações com solubilidades ruminais distintas, assim como determinar a degradabilidade deste material no período de estudo.

A técnica de produção de gases considera a conversão de todas as principais fontes de carboidratos como monossacarídeos, polissacarídeos, pectinas, amido, celulose e hemicelulose, produzindo CO_2 e CH_4 e, também, a reação dos AGV com o

tampão bicarbonato. Assim, esse método pode ser utilizado para determinar a importância de algumas dessas diferentes frações do alimento, em fornecer energia aos microrganismos (Pell & Schofield, 1993). A técnica ainda assume que a produção de massa celular bacteriana e de gases é proporcional à quantidade de substrato digerido.

Segundo Beauchemin et al. (2003) alguns produtos enzimáticos são utilizados na alimentação de ruminantes, sendo extratos concentrados, resultantes da fermentação bacteriana (principalmente *Bacillus* spp.) ou fúngica (principalmente *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus niger*, *A. oryzae*), tendo atividades enzimáticas específicas. Esses produtos enzimáticos, normalmente são misturas de celulases e xilanases, produzidas e comercializadas para outros fins. Além de enzimas fibrolíticas, estes produtos enzimáticos também apresentam atividades enzimáticas secundárias, como amilases, proteases e pectinases.

Vários estudos demonstraram que o tratamento com enzimas fibrolíticas pode agir diretamente sobre a fibra, aumentando a degradação da MS e da FDN no rúmen (Feng et al., 1996; Hristov et al., 2000). Melhoria da degradação de carboidratos fibrosos e não fibrosos no rúmen é importante para a utilização dos alimentos em ruminantes. Enzimas fibrolíticas exógenas têm melhorado o consumo de ração (Jalilvand et al, 2007;. Krueger et al., 2008), o que poderia ser atribuído a digestão ruminal de alimentos fibrosos (Eun & Beauchemin, 2008), mas o mecanismo desta incremento não é compreendido.

Segundo McAllister et al., 2001, as atividades bioquímicas de enzimas alimentares testadas em condições controladas, nem sempre prever sua capacidade de melhorar a digestão de alimentos para ruminantes. Para Morgavi et al. (2000), isso ocorre principalmente porque as enzimas devem atuar em sinergia com a comunidade microbiana ruminal para alterar a digestão de alimentos. Também é importante testar as enzimas em rações individuais, pois sua atividade pode ser específica para o tipo de alimentação.

Desse modo, objetivou-se avaliar os efeitos dos tratamentos com ureia e enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira, através da degradabilidade e a cinética da fermentação ruminal *in vitro*, utilizando a técnica semiautomática de produção de gases *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal – UESB, Campus de Vitória da Conquista/BA. Para avaliar o efeito da ureia e enzimas sobre o tratamento químico/biológico do resíduo de algodoeira, foram utilizadas dois níveis de ureia (0 e 6 %) e 4 doses de enzimas fibrolíticas exógenas (0, 2, 4 e 6 %), ambas com base na MS. Para tanto, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições, onde os resultados serão analisados dentro de um esquema fatorial (2 x 4).

O resíduo de algodoeiras foi obtido na algodoeira Shayonara em Guanambi/BA. Este resíduo apresentou-se em média de 95% de MS, sendo necessário aumentar a umidade deste, para melhor eficácia da amonização (Reis & Rodrigues, 1993).

Antes da adição das enzimas fibrolíticas e do tratamento com ureia no resíduo de algodoeiras, foram retiradas amostras para determinação da composição químico-bromatológica, conforme metodologia descrita por Detmann et al. (2012) (Tabela 1).

A quantidade de água foi calculada para elevar a umidade dos volumosos para 25%. A quantidade de resíduo de algodoeira utilizada em cada tratamento foi de 2 kg, sendo determinado previamente o percentual de matéria seca para aplicação dos tratamentos. Após pesar a quantidade do resíduo os mesmo foram colocados em sacos de polietileno com dimensões de 0,45 x 0,70 m, devidamente identificados. Para o pré-tratamento com ureia o resíduo de algodoeira foram colocados em baldes com capacidade de 20 L para melhor aplicação da solução com ureia. Antes do pré-tratamento com a ureia foi adicionado ao material, grãos de soja moída como forma de fonte de urease (1,5% com base na MS).

A ureia foi diluída em água e aplicada por aspersão, mexendo para homogeneização. Em seguida, o material foi colocado novamente nos sacos de polietileno pré-identificados, fechados e cobertos por uma lona plástica ficando armazenados por 60 dias, após este período os sacos foram abertos e aerados por três dias.

As enzimas fibrolíticas exógenas utilizadas, foram extraídas dos fungos *Trichoderma reesei* e *Aspergillus aculeatus*. O produto[4] é constituído de celulases e hemicelulases, na forma líquida, de coloração marrom, com densidade de 1,22 g/mL,

[4] Novozymes Latin America Ltda: celulase (Celluclast® 1.5 L) e hemicelulase (Viscozyme® L).

tendo como condições ótimas para atividade enzimática da celulase 45-50 ºC e pH 4,5-6,5, e da hemicelulase 40-60 ºC e pH 5,0- 6,5. Esta última, além da hemicelulase, contém outras enzimas, incluindo ß-glucanases, xilanases, arabinases, celulases e pentosanases.

Para a avaliação da atividade das enzimas celulases e hemicelulases, utilizou-se a metodologia descrita Wood e Bhat (1988) e Bailey et al. (1992), tomando como referência glicose padrão e xilose padrão, respectivamente. A atividade da Endoglucanase e Xilanase, para avaliação das enzimas celulases e hemicelulase foram de 2,7180 e 1,6340 µmol. mL^{-1} utilizando 1% de carboximetilcelulose e xilana de aveia como substratos, respectivamente, mostrando a efetividade das enzimas.

Após três dias da abertura dos sacos, o material foi tratado biologicamente com as enzimas. Os tratamentos que não receberam as enzimas foram acrescentados água na mesma proporção do material que recebeu enzimas, para padronização da umidade do material, colocando-os em seguida numa estufa com circulação forçada de ar, ajustada à temperatura de 40ºC, deixando agir por 24 horas.

Para as outras unidades experimentais que receberam o tratamento biológico foram calculadas as quantidades de enzimas, que correspondem a 2, 4 e 6% com base na matéria seca, sendo diluídas em água (100 ml/kg de MS), na proporção de 75% celulase e 25% hemicelulase, sendo aplicado com aspersão, colocando-os em seguida numa estufa com circulação forçada de ar, ajustada à temperatura de 40ºC, deixando agir por 24 horas para ação das enzimas.

Depois dessa etapa, foram coletados sub-amostras de cada unidade experimental sendo colocadas em bandejas de alumínio para secagem em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 55 ºC por 72 horas, em seguida, foram moídas utilizando peneiras de 1 mm e acondicionadas em recipientes de polietileno vedados com tampa e realizadas as análise laboratoriais.

Os tratamentos foram incubadas em frascos (160 mL), previamente injetados com CO_2, segundo a técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases descrita por Maurício et al. (1999). Para tanto, os frascos foram colocados em uma estufa com temperatura constante de 39 °C, durante todo o período de incubação. Foi adicionado 1,0 g de amostra por frasco, para cada tratamento, juntamente 90,0 mL de meio de cultura, conforme Theodorou et al. (1994) e, em seguida, estes foram vedados com rolhas de borracha. A inoculação (10,0 mL/frasco) foi feita usando líquido ruminal de

três bovinos fistulados no rúmen e mantidos a pasto (*Brachiaria sp*.), recebendo 2 kg de resíduo de algodoeira no cocho por dia.

A produção cumulativa de gases foi estimada por meio da mensuração da pressão dos gases, produzidos no decorrer do processo fermentativo, utilizando-se um transdutor de pressão (tipo T443A; BAILEY; MACKEY, Inglaterra), às 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72, 96 e 120 h de incubação, fazendo-se uso da equação $V = -0{,}02 + 4{,}30p + 0{,}07p^2$, $R^2 = 0{,}99$, determinada por Figueiredo et al. (2003), para altitude local, em que V = volume total de gases e "p" é a pressão dos gases dentro dos frascos de fermentação (psi = pressão por polegada quadrada). De cada leitura de pressão, foi subtraído o total de gases produzidos nos frascos sem substrato (branco), referentes a cada amostra.

A biomassa microbiana ($mg.g^{-1}$ de MS digestível) foi mensurada a partir da diferença entre o substrato aparentemente degradado e o verdadeiramente degradado (Blümmel et al., 1997).

O fator de partição (FP), foi obtido pela divisão dos valores do substrato da matéria orgânica verdadeiramente degradada ($mg.g^{-1}$) pela produção de gases (mL), em cada tempo de degradação (Blümmel et al., 1997; Blümmel et al., 1999), para comparar os tratamentos em relação as suas eficiências de degradação e produção de gases.

O modelo bicompartimental proposto por Schofield et al. (1994) foi utilizado para descrever a cinética do processo de fermentação por meio da produção cumulativa de gases na fase rápida Vf_1 ($mL.g^{-1}$), correspondendo à fermentação dos carboidratos não fibrosos (frações A + B1), taxa específica de degradação da fração rápida Kd_1 (h^{-1}), produção cumulativa de gases da fração lenta Vf_2 ($mL.g^{-1}$),específica para os carboidratos fibrosos (frações B2 e C) e taxa específica de degradação da fração lenta Kd_2 (h^{-1}), tempo de colonização L (h^{-1}), conforme a equação:

$$V(t) = (Vf_1/(1+ \exp(2-4*Kd_1*(T-L)))+(Vf_2/(1+\exp(2-4*Kd_2*(T-L))),$$

em que V(t) é o volume acumulado no tempo t; Vf_1 = volume de gás oriundo da fração de rápida digestão (CNF); $Kd_1(h^{-1})$ = taxa de degradação da fração de rápida digestão (CNF); L = latência ou tempo de colonização em horas; T = tempo (h); Vf_2 = volume de gás da fração de lenta degradação (B2) e Kd_2 (h^{-1}) = taxa de degradação da fração B2.

A determinação da degrabilidade ruminal "*in vitro*" do material tratado, foi realizada no fermentador ruminal DAISY^{II} (ANKOM®Technology Corp.,Fairport, NY). Os inóculos foram obtidos de vacas mestiças Holandesa x Zebu (H x Z), portadoras de

cânula ruminal, mantidas a pasto (*Brachiaria sp.*), recebendo 2 kg de resíduo de algodoeira no cocho por dia, 15 antes para adaptação ao alimento.

Na determinação da degradabilidade ruminal *in vitro* da MS, da FDN e da FDA do resíduo, foi utilizada a metodologia da ANKOM® (ANKOM TECHNOLOGY, 2010), adaptada ao rúmen artificial, utilizando a incubadora TE-150 (TECNAL). Foram pesados 0,5 g de amostra seca em sacos de filtro (F-57 ANKOM®), que em seguida foram vedados utilizando-se uma seladora com lâmina incandescente. Os sacos foram colocados em seis jarros de incubação de vidro, sendo 34 amostras por jarro. Cada jarro corresponde a um dos tempos de incubação, sendo 0 (lavados diretamente), 6, 12, 24, 48, 96 e 120 horas.

Para estimativa da degradabilidade potencial da MS e parâmetros da cinética da degradabilidade ruminal de cada unidade experimental foi utilizado o modelo de McDonald (1981), de acordo com a fórmula: $p = a+b(1-e^{-c\times(t-L)})$, 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 da fração fibrosa (FDN e FDA), foi utilizado o modelo de Mertens & Loften (1980), de acordo com a fórmula: $\hat{Y} = b\times e^{(-c\times(T-L))} + I$ quando t > L e $\hat{Y}$ = b + I quando 0 < t < L, onde "Y" é o resíduo não degradável no tempo T; "b", a fração potencialmente degradável da fibra (no tempo t ≤ L, b = $\hat{Y} - I$); "c", a taxa de degradação de b (h-1); "T", o período de incubação, em horas; "L", a latência ou tempo de incubação (h); e "I", a fração indigestível da fibra.

A degradabilidade efetiva ou real do resíduo de algodoeira foi calculada pela fórmula: $p = a + [(b\times c)/(c+k)\times e^{-(c+k)\times L}]$ em que "k" é a taxa de passagem (McDonald, 1981). Utilizaram-se as taxas de passagem de 5 e 8% para o cálculo da degradabilidade efetiva.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Para avaliação do efeito ureia, as médias foram comparadas por meio do Teste F, e regressão, para avaliar os efeitos do aumento das doses de enzimas sobre as variáveis resposta. As médias foram analisadas com o auxílio do programa estatístico Statistical Analyses System - SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A comparação dos resultados encontrados para os parâmetros da cinética da fermentação ruminal, estimados por meio do uso do modelo matemático bicompartimental para os tratamentos químicos avaliados, não evidenciou diferença significativa (P>0,05) em relação a taxa de digestão das frações de carboidratos não fibrosos - CNF (Kd_1), observando o mesmo comportamento para a taxa de digestão dos carboidratos fibrosos - CF (Kd_2) (Tabela 8.)

A interação entre os tratamentos com ureia e enzimas fibrolíticas ocorreu de forma significativa (P<0,05) apenas para o parâmetro do tempo de colonização (L), sendo que os demais não verificaram a interação significativa (P>0,05) (Tabela 8).

Tabela 8. Estimativas dos parâmetros cinéticos da produção de gases *in vitro* da matéria seca (MS) do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	**Enzimas (%)** 0	2	4	6	Médias	CV (%)	Equação	R^2
					Vf_1 (mL/g)			
0	12,0	15,5	16,4	20,9	16,2 b			
6	10,2	25,4	23,7	25,2	21,1 a	25,9	Ŷ= 13,329 + 1,772x	0,77
Médias	11,1	20,5	20,0	23,0				
					$Kd_1(h^{-1})$			
0	0,07	0,07	0,08	0,06	0,07 a			
6	0,16	0,06	0,06	0,07	0,08 a	26,9	Ŷ= 0,0095	
Médias	0,11	0,06	0,07	0,06				
					L (h)			
0	10,2 b	10,8 b	14,8 a	10,7 a	11,6	13,6	Ŷ= 11,625	
6	43,7 a	17,6 a	17,1 a	16,2 a	23,7		Ŷ= 36,066 - 4,139x	0,57
					Vf_2 (mL/g)			
0	43,1	47,6	50,5	63,8	51,2 b			
6	55,3	68,4	63,5	62,5	62,4 a	14,7	Ŷ= 50,725 + 2,038x	0,84
Médias	49,2	58,0	57,0	63,1				
					Kd_2 (h^{-1})			
0	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01 a			
6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01 a	11,5	Ŷ= 0,0107 - 0,0003x	0,88
Médias	0,01	0,01	0,01	0,01				
					Total (mL/g)			
0	55,1	63,1	66,9	84,7	67,4 b			
6	60,0	93,9	87,2	87,7	82,2 a	15,0	Ŷ= 62,132 + 4,222x	0,80
Médias	57,5	78,5	77,0	86,2				

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem pelo Teste F a 5% de Probabilidade. C.V.(%): coeficiente de variação. R^2: coeficiente de determinação. Vf_1: volume máximo de produção de gases da fração CNF; Kd_1: taxa de digestão para a fração dos CNF; L: tempo de colonização; Vf_2: volume máximo da produção de gases da fração dos CF; Kd_2: taxa de digestão para a fração dos CF; Total: Produção total de gases.

Para o parâmetro VF_1, que representa a produção dos gases originados pelos CNF, houve diferença significativa com os tratamentos com e sem ureia, sendo que o

tratamento de 6% de ureia obteve média superior ao tratamento sem amonização. Para os efeitos do tratamento com enzimas, os mesmos apresentaram efeito linear, com aumento de 1,7 unidades percentuais para cada 1% de enzima acrescida, em relação ao tratamento sem aplicação da enzima (Tabela 8).

A taxa média de digestão das frações de carboidratos não fibrosos - CNF (Kd_1), observadas no presente estudo, 0,068 e 0,083 h^{-1}, foram semelhantes que os observados por Viana (2012), para a torta de algodão proveniente da extração do óleo sob diferentes condições de processamento.

Os resultados obtidos no parâmetro VF_2, que refletem a produção de gases oriunda dos carboidratos fibrosos, demonstrou efeito significativo (P>0,05) no tratamento com ureia, aumentando a fermentação dos carboidratos fibrosos com a amonização (Tabela 8). Para os tratamentos com enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira encontrou-se um aumento linear positivo de 2,0 unidades percentuais na fermentação para cada 1% de enzimas fibrolíticas acrescidas em relação ao tratamento sem aplicação da enzima, e a taxa de degradação dos carboidratos fibrosos (Kd_2) não diferiu significamente (P>0,05) com os tratamentos químicos e biológicos (Tabela 7).

Os resultados do VF_2 foram influenciados pela redução nos teores dos carboidratos fibrosos, principalmente a redução da FDN (Tabelas 3 e 5), possivelmente, apresentou incremento nas frações de rápida degradação e, consequentemente, maior taxa de degradação referente às frações dos CF.

Para o parâmetro do tempo de colonização, avaliando o tratamento com ureia, percebe-se que há diferença significativa (P<0,05) quando se utilizaram as doses de 0 e 2% de enzimas, tendo o tratamento com ureia média superior que o tratamento sem a ureia. Averiguando os efeitos das enzimas com a amonização, ocorreu um decréscimo de 43,7 para 16,2 horas entre os tratamentos com 0 até 6% de enzimas. Nos níveis de enzimas, observou-se efeito linear, com redução de 4,1 horas para haver a colonização quando acrescido de 1% de enzimas fibrolíticas em relação ao tratamento sem aplicação da enzima, sendo que esta redução é importante para iniciar os processos da fermentação. Os resultados das enzimas no material sem a amonização, não obteve efeito significativo (P>0,05).

Deve ser levado em conta que quanto menor o tempo de colonização, mais rapidamente a microbiota ruminal inicia o processo de degradação do alimento. Resíduos agroindustriais caracterizados pela baixa degradabilidade ruminal necessitam

de um tempo mais longo de colonização pelos microrganismos ruminais (Bertipaglia et al., 2000). Diante deste fato, observou-se que o uso das enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira contribuiu para diminuir o tempo de colonização, porém o uso da uréia isoladamente promoveu a elevação deste parâmetro. Este fenômeno pode estar relacionado à solubilização da hemicelulose promovida pela ureólise restando a fração lignificada do resíduo.

O total de gases produzidos, estimados pelo modelo (Total), houve efeito dos tratamentos químico com ureia, sendo que a amonização com 6% apresentou média superior que o tratamento sem ureia. Para o tratamento biológico com as enzimas fibrolíticas, verificou-se um aumento linear positivo de 4,2 unidades percentuais para cada 1% de enzimas inoculadas no tratamento, em relação ao tratamento sem aplicação da enzima.

Mesmo apresentando um maior tempo para colonização (L), os tratamentos com ureia apresentaram uma maior fermentação de carboidratos fibrosos e não fibrosos, influenciando no aumento da produção total de gases (Tabela 8).

Nas Figuras 1 e 2, pode ser observada a evolução da produção cumulativa de gases provenientes dos CNF e CF, respectivamente. Observando as curvas de evolução da produção cumulativa dos CNF (Figura 1), nota-se que, a partir do período de 12 horas, há um incremento acentuado na produção de gases semelhante entre os tratamentos, com exceção do tratamento com 6% de ureia e sem enzima, nos quais houve produção de gases somente depois de 36 horas, uma vez que o nitrogênio não-proteíco do tratamento não produz gases. Entretanto, os tratamentos com 6U2E e 6U6E, foram semelhantes, destacando-se dos demais com maior produção cumulativa de gases ($P<0,05$), principalmente pelo aumento dos CNF (Tabela 5).

De acordo com Khazaal et al. (1995), a incubação de substratos ricos em proteína resulta na formação de bicarbonato de amônio, a partir de CO_2 e amônia, reduzindo, assim, a contribuição do CO_2 para a produção total de gases influenciando assim negativamente a produção total de gases mensurada nos tratamentos com uréia.

Na Figura 2, observa-se que produções de gases dos carboidratos fibrosos foram próximas até 72 horas ($P<0,05$), com exceção do tratamento com ureia e sem enzimas fibrolíticas. Após as 72 horas os tratamentos sem ureia e 6% de enzimas, 6% de ureia e com 2, 4 e 6% de enzimas, destacaram dos demais, com maior produção cumulativa de gases. O tratamento com ureia e sem enzimas, também obteve baixa produção de gases,

sendo aumentado entre 36 e 48 horas, sendo semelhantes aos demais tratamentos após 120 horas de fermentação.

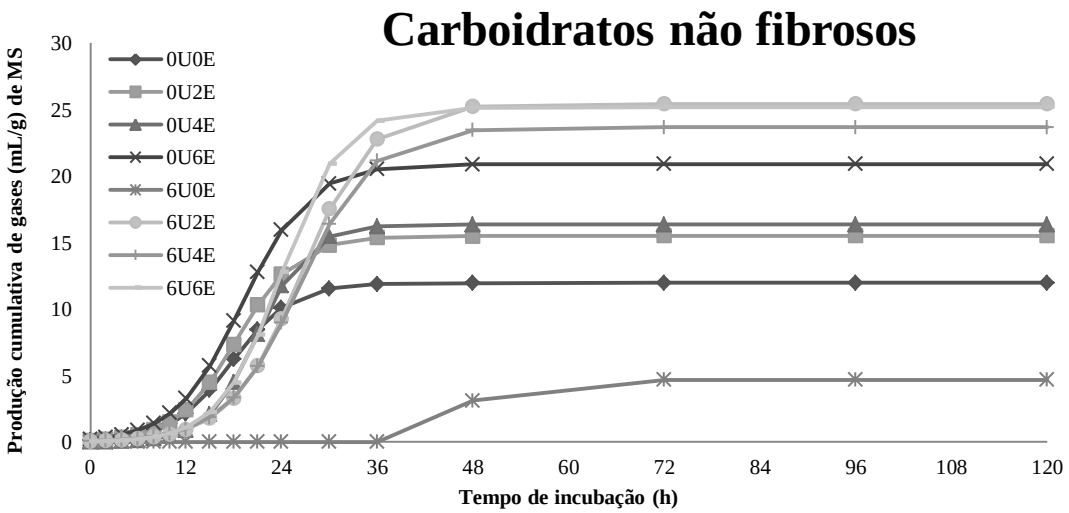


Figura 1. Curva de produção cumulativa de gases provenientes dos carboidratos não fibrosos, do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

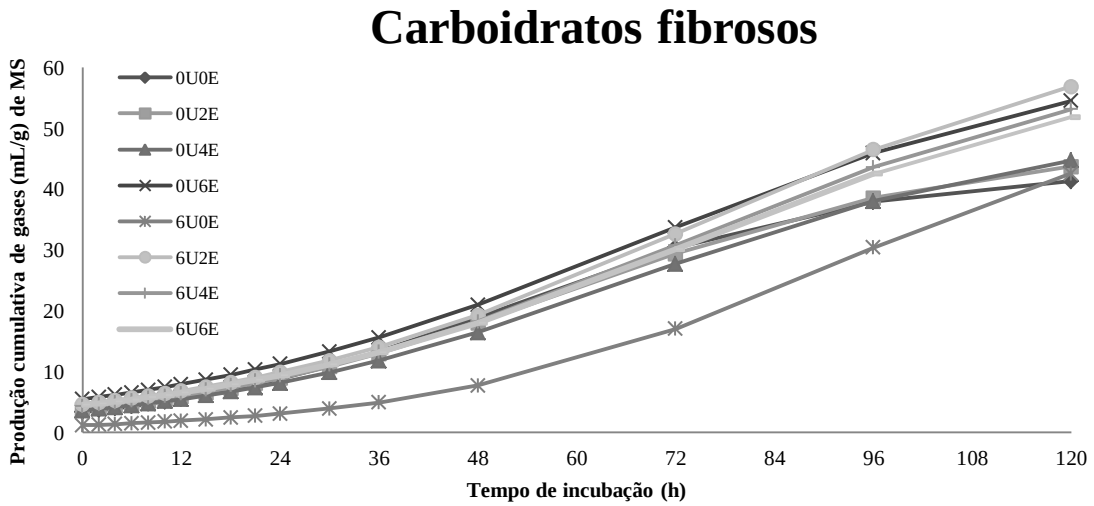


Figura 2. Curva de produção cumulativa de gases provenientes dos carboidratos fibrosos, do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Observou-se interação significativa (P<0,05) entre os tratamentos com ureia e enzimas fibrolíticas, para os resultados da produção cumulativa de gases (PCG), biomassa microbiana (BIO) e matéria orgânica verdadeiramente digestível (MOVd), do resíduo de algodoeira, avaliadas no presente estudo. Já para o parâmetro fator de partição (FP), não se obteve interação entre os tratamentos (Tabela 9).

Avaliando os efeitos da amonização sobre os resultados da PCG, o tratamento com ureia não diferiu do tratamento sem ureia, quando os mesmos foram utilizados 0 e 6% de enzimas, e nos resultados da BIO, foram semelhantes somente no tratamento sem enzimas. Porém, quando utilizados 2 e 4% de enzimas para PCG e 2, 4 e 6% para BIO, a amonização com ureia apresenta um efeito significativo, com média superior que o do tratamento sem a ureia.

Para a avaliação das enzimas sobre a PCG e BIO, pode-se verificar que no tratamento sem a amonização com ureia, a hidrólise enzimática apresentou um efeito linear positivo, com aumento de 3,5 e 0,66 unidades percentual, respectivamente, para cada 1% de enzimas fibrolíticas, em relação ao tratamento sem aplicação da enzima no resíduo de algodoeira. Já no tratamento com ureia, o efeito foi quadrático para ambos, tendo seus pontos de máxima e mínima de 4,0 e 3,7, respectivamente para PCG e BIO.

Tabela 9. Produções cumulativas de gases (PCG), biomassa microbiana (BIO), fator de partição (FP) e matéria orgânica verdadeiramente digestível (MOVd), do resíduo de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	**Enzimas (%)** 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
Produção cumulativa de gases$_{120}$ (mL.g^{-1})								
0	53,8 a	60,2 b	62,4 b	76,4 a	63,2	13,6	$\hat{Y}$= 52,669 + 3,507x	0,90
6	50,3 a	85,6 a	79,8 a	81,2 a	74,2		$\hat{Y}$= 52,705 + 17,045x - 2,117x^2	0,64
Biomassa microbiana$_{120}$ (mg.g^{-1})								
0	5,2 a	8,7 a	8,8 a	9,6 a	8,1	13,7	$\hat{Y}$= 6,082 + 0,664x	0,76
6	4,7 a	3,3 b	3,0 b	3,6 b	3,7		$\hat{Y}$= 4,687 - 0,924x + 0,125x^2	0,99
Fator de partição (mg.mL^{-1})								
0	8,3	6,9	7,1	6,2	7,1 a			
6	7,7	5,5	5,8	5,8	6,2 b	13,9	$\hat{Y}$= 7,842 - 0,797x + 0,085x^2	0,85
Médias	8,0	6,2	6,4	6,0				
Matéria orgânica verdadeiramente digestível$_{120}$ (% MS)								
0	44,2 a	40,9 b	43,8 a	45,7 a	43,6	5,7	$\hat{Y}$= 43,650	-
6	38,1 b	46,8 a	45,7 a	46,9 a	44,4		$\hat{Y}$= 38,721 + 4,047x - 0,464x^2	0,79

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem pelo Teste F a 5% de Probabilidade. C.V.(%): coeficiente de variação. R^2: coeficiente de determinação.

Os valores do fator de partição (FP) em mg.mL^{-1}, que relacionam a quantidade de substrato verdadeiramente degradado e a produção de gases (Cruz, et al., 2010; Velásquez et al., 2010), diminuíram com o tratamento químico com ureia (Tabela 9). Esse fato está associado à dinâmica de fermentação dos CNF que são degradados nas primeiras horas de fermentação e produzem menos gases comparados aos CF (Blümmel et al., 1997). Na avaliação dos resultados do tratamento enzimático, ocorreu um efeito quadrático, com ponto de mínima de 4,7% de enzimas fibrolíticas.

De acordo com Makkar et al. (2001), o FP mensura a eficiência de síntese de proteína microbiana, cuja amplitude pode variar entre 2,74 e 4,41 $mg.mL^{-1}$. Estes autores e Blümmel et al. (1999) verificaram que os valores de FP *in vitro* apresentaram alta correlação com a síntese microbiana *in vivo*, em que maiores FP ocasionaram maior excreção de derivados de purina e a produção de dióxido de carbono e metano no rúmen, sendo os maiores valores de FP associados às menores produções destes gases.

Nos resultados da MOVd, a amonização obteve diferenças entre as médias quando utilizado 2% e sem enzimas (Tabela 9). Para os resultados do tratamento biológico com enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira, não se obteve efeito significativo (P>0,05) sem a amonização, enquanto que para o pré-tratamento com ureia, foi observado um efeito quadrático com a inoculação das enzimas, tendo seu ponto de máxima de 4,4% de enzimas.

O tratamento com 6% de ureia e 2 de enzimas fibrolítica, apresentou a maior produção de gases. O tratamento com 6% de ureia e sem as enzimas fibrolíticas apresentou a menor produção ao final de 120 horas de incubação. Em todos os demais tratamentos, entre as 12 horas e 36 horas de fermentação, as curvas de produção cumulativa de gases apresentam maior inflexão, não apresentando uma tendência de estabilização desta produção, até às 120 horas de fermentação avaliadas (Figura 3). Este fato pode ter ocorrido por ser um material resíduo agrícola com alto de parede celular, necessitando de maior tempo para fermentação ruminal.

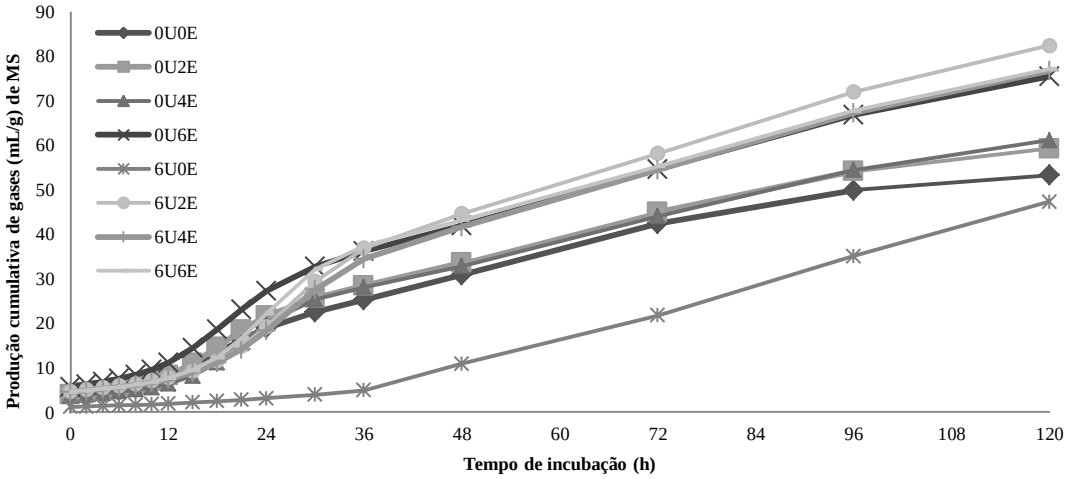


Figura 3. Curvas de produção cumulativa de gases do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Muniz et al. (2011) afirmam que maior tempo de colonização associa-se à taxa de degradação e produção total de gases e evidenciam que à medida que se aumenta o tempo de colonização, a taxa de degradação e o volume total de gases diminuem, fato que pode explicar a menor produção total de gases em 6U0E.

As maiores produções de gases foram observadas para os tratamentos com 6% de ureia e 2, 4 e 6% de enzimas fibrolíticas, e com 0% de ureia e 6% de enzimas, diferenciando dos demais tratamentos, principalmente após as 36 horas de incubação. Este fato provavelmente está ligado à fermentação desse material com o aumento dos carboidratos não fibrosos nestes tratamentos pela ação da ureia e enzimas fibrolíticas, mencionados na Tabela 5.

Os resultados dos parâmetros da degradabilidade *in vitro* da matéria seca foram afetadas (P<0,05) pelos níveis de ureia e enzimas fibrolíticas, porém sem interação entre estes para nenhum parâmetro (Tabela 10).

Tabela 10. Parâmetros médios da degradabilidade ruminal *in vitro* da matéria seca do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas.

Ureia (%)	**Enzimas (%)** 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
					a[1] (%)			
0	17,9	18,8	20,4	19,6	19,1 a			
6	13,8	13,5	13,2	14,0	13,6 b	8,8	Ŷ= 16,397	-
Médias	15,9	16,1	16,8	16,8				
					b[2] (%)			
0	33,9	33,1	33,3	36,4	34,2 b			
6	37,1	39,3	41,5	43,8	40,4 a	5,3	Ŷ= 35,078 + 0,745x	0,86
Médias	35,8	35,7	37,7	40,1				
					c[3] (%/h)			
0	0,033	0,037	0,041	0,042	0,038 b			
6	0,036	0,047	0,047	0,048	0,044 a	10,6	Ŷ= 0,036 + 0,0017x	0,91
Médias	0,034	0,042	0,044	0,045				
					DP[4] (%)			
0	51,9	51,9	53,7	56,0	53,4			
6	51,4	51,8	55,2	57,8	54,1	2,4	Ŷ= 50,961 + 0,9166x	0,92
Médias	51,7	51,9	54,4	56,9				
					DE[5] 5%/h (%)			
0	31,3	32,7	35,4	36,1	33,9 a			
6	29,6	31,9	33,6	35,5	32,6 b	3,3	Ŷ= 30,514 + 0,913x	0,99
Média	30,4	32,3	34,5	35,8				
					DE[5] 8%/h (%)			
0	27,7	29,1	31,7	32,0	30,1 a			
6	25,5	27,6	28,8	30,5	28,1 b	4,1	Ŷ= 26,741 + 0,788x	0,99
Média	26,6	28,3	30,2	31,2				

Médias seguidas de letras iguais entre colunas não diferem pelo Teste F (P<0,05). R^2 = coeficiente de determinação. C.V. (%) = coeficiente de variação. [1]fração solúvel; [2]fração potencialmente degradável; [3]taxa de degradação da fração c; [4]degradabilidade potencial; [5]degradabilidade efetiva.

Para os valores da fração “a” (fração solúvel), observou-se uma diminuição da degradabilidade desta fração de 19,15% para 13,65% (P<0,05) com adição de ureia. Este fato ocorreu devido às características da ureia ser bastante solúvel, uma vez que essa fração é lavada diretamente, sem incubação com o inóculo, quando pesado a amostra a ureia faz parte do peso, sendo solubilizada pela água da lavagem, o que decresce o teor da fração solúvel.

Nos resultados da fração “b” (fração potencialmente degradável) observou-se aumento significativo (P<0,05) com adição de ureia de 34,21% para 40,42%, aumento este de 18%. Pires et al. (2004) verificaram menores valores da fração “b” no bagaço de cana controle e com Na_2S (40,85 e 44,74%), e maiores para os bagaços com NH_3 e com NH_3 + Na_2S (53,26 e 48,81%), respectivamente. Já Andrade et al. (2012), tratando resíduo de algodoeira com ureia e enzimas fibrolíticas, encontraram valores da fração “b” de 31,9; 32,3 e 26,8 para os níveis de 4, 6 e 8% de ureia, respectivamente, sendo que os resultados deste presente estudo foram maiores, devido a diferença encontradas entre os dois subproduto, pela heterogeneidade do material.

A fração “c” (taxa de degradação da fração b) observa-se aumento (P<0,05) com adição de ureia de 0,038 para 0,045, diferindo entre si. Esses resultados foram maiores que os encontrados por Oliveira (2011), trabalhando com bagaços de cana tratados com ureia e enzimas fibrolíticas, encontrando valores de 0,02 e 0,03%/h, para os materiais tratados e sem ureia, respectivamente, e maiores que os encontrados por Andrade et al. (2012), amonizando resíduo de algodoeira, obtendo-se em média 0,016; 0,018 e 0,029, para 4, 6 e 8% de ureia, o que pode ser explicado para heterogeneidade do subproduto da agroindústria do algodão.

Para a degradabilidade efetiva a 5% e 8% a adição de ureia reduziu a degradação (P<0,05) de 33,86% e 30,12% para 32,65% e 28,09% respectivamente. Para a degradabilidade potencial não houve efeito da adição da ureia (P<0,05).

Quando volumosos são amonizados, há uma tendência dos parâmetros da degradabilidade aumentarem devido ao incremento no teor protéico do alimento, assim como ocorrer à solubilização da hemicelulose, com decréscimo nos teores de FDN, o que elevaria as taxas de degradação destes materiais. O decréscimo encontrado na fração solúvel (a) para o resíduo da algodoeira com ureia em relação ao não tratado (19,1 e 13,6%, respectivamente) influenciou negativamente os resultados da degradabilidade efetiva (Tabela 10).

Quanto aos resultados do tratamento biológico com enzimas fibrolíticas, a fração solúvel não houve efeito significativo pela adição dos diferentes níveis de enzima (P>0,05). Já os demais parâmetros obteve efeito linear crescente (P<0,01) para a utilização das enzimas fibrolíticas, sendo que a cada 1% de enzimas eleva-se 0,75; 0,0017; 0,92; 0,91 e 0,79 unidades percentuais para a fração potencialmente degradável, taxa de degradação da fração "c"; degradabilidade potencial; degradabilidade efetiva à 5%/h e degradabilidade efetiva à 8%/h, respectivamente.

Alvaréz et al., (2009), trabalhando com aplicação de enzimas (Fibrozymes e Promote) na palha de aveia e farelo de trigo, observaram que as enzimas aumentaram a fração solúvel (a) do material tratado, mas não foram detectados efeitos sobre a fração potencialmente digestível (b), da taxa de degração da fração "b" (c), e da degradabilidade potencial (a + b). Segundo os mesmos autores relataram, a degradaçãode MS foi maior quando as enzimas foram pré-incubadas com a forragem.

Diferenças na fração "b" foram também constatadas por Martins et al. (2007) em bagaço de cana, sem e com adição de enzimas fibrolíticas exógenas, com valores de 33,27 e 42,57%, respectivamente. No presente trabalho os valores aumentaram linearmente de 35,8 para 40,1%, com 0 e 6% de enzimas fibrolíticas, respectivamente.

Krueger et al. (2008) trabalhando com enzimas fibrolíticas (Biocellulase A20) e NH_3 em feno de capim bermuda, relataram que o coeficiente "c" não foi afetado, apresentando valores de 4,75; 5,14; 4,27; 3,84 e 4,09%/h para o controle, NH_3, enzimas aplicadas após o corte, no enfardamento e no momento da alimentação dos animais, respectivamente.

Normalmente, os volumosos de baixa qualidade quando são amonizados melhoram os parâmetros da degradabilidade, principalmente pelo incremento no teor de PB do alimento (adição de NNP) e decréscimo nos teores da parede celular, que, por sua vez, eleva as taxas de degradação (Paiva et al., 1995).

Segundo Yang et al. (1999), a adição de enzimas fibrolíticas promove aumento da colonização microbiana, uma vez que a presença de celulases no conteúdo ruminal favorece a adesão das bactérias à celulose.

Willis et al. (1980) realizaram estudos para determinar os efeitos do hidróxido de sódio (NaOH), de enzimas microbianas (hemicelulase, pectinase e β-glucosidase) e combinações de tratamentos com NaOH e enzimas sobre a digestibilidade em palha de arroz ensilada. Eles observaram que a DIVMS da palha de arroz tratada com pectinase e

β-glucosidase individualmente, e em associação com hemicelulase foram menores do que o controle, 27,3; 29,9; 28,0 e 32,2%, respectivamente, e o tratamento com hemicelulase resultou em valores semelhantes ao controle, iguais a 31,2 e 32,2%, respectivamente. Porém, a digestibilidade da MS do material tratado com 2 a 5% NaOH foi melhorada significativamente, variando de 46,4 para 55,4%.

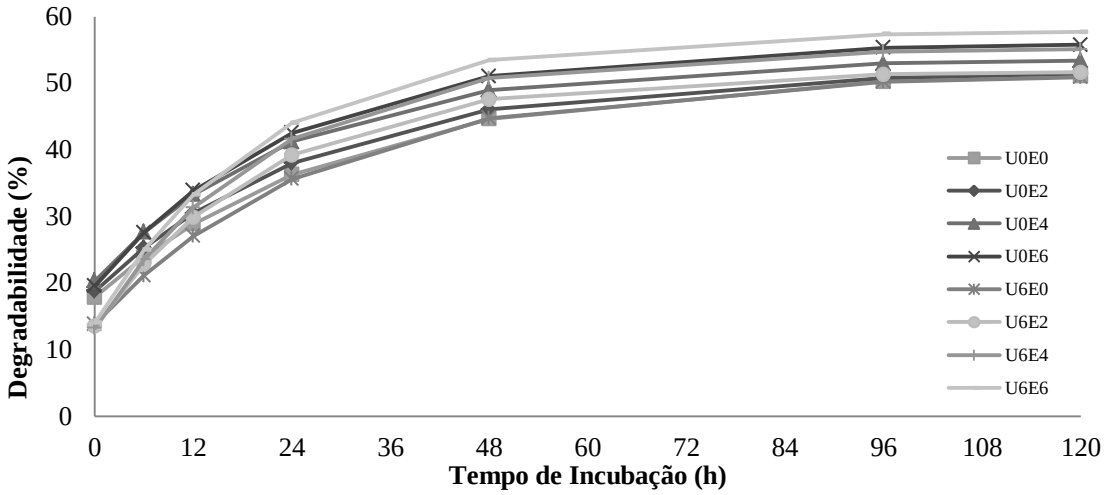


Figura 4. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da matéria seca do resíduo de varredura de algodoeiras tratada com ureia e enzimas fibrolíticas.

Os resultados dos parâmetros da degradabilidade "*in vitro*" da FDN foram afetadas (P<0,05) pela interação entre ureia e enzimas fibrolíticas (Tabela 11), para os parâmetros fração potencialmente degradável (b), taxa de degradação da fração "b" (c) e fração indigestível da fibra (I). Para os demais não houve interação significativa (P>0,05).

Os efeitos da amonização sobre o resíduo de algodoeira, avaliando o parâmetro da fração "b" e "I", demonstraram que no tratamento sem enzimas, houve diferença significativa entre os tratamentos. Para os demais tratamentos não houve diferenças significativas (P>0,05).

O aumento na fração "I" do tratamento 6% de ureia e sem enzimas implicou na redução da produção cumulativa de gases, possivelmente pelo menor teor de carboidratos prontamente fermentáveis. A fração "c" (taxa de degradação da fração "b") apresentou um aumento significativo (P<0,05) com o tratamento químico da ureia sobre o resíduo de algodoeira.

Normalmente, nos volumosos de baixa qualidade quando são amonizados, ocorre solubilização parcial da hemicelulose e expansão da parede celular, permitindo

desta forma, que os microrganismos do rúmen tenham maior superfície específica para se aderirem e, consequentemente, aumentar a degradabilidade ruminal do material.

Tabela 11. Parâmetros médios da degradabilidade ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas.

Ureia (%)	Enzimas (%) 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
					b[1] (%)			
0	47,9 a	47,6 a	47,7 a	48,5 a	47,9	3,6	Ŷ= 47,925	-
6	43,7 b	46,7 a	48,1 a	50,2 a	47,2		Ŷ= 44,006 + 1,049x	0,98
					c[2] (%/h)			
0	2,02 b	2,02 b	2,03 b	2,04 b	2,02	0,2	Ŷ= 2,019 + 0,003x	0,99
6	2,04 a	2,04 a	2,04 a	2,05 a	2,04		Ŷ= 2,040 + 0,0008x	0,96
					I[3] (%)			
0	52,1 b	52,4 a	52,3 a	51,5 a	52,1	3,2	Ŷ= 52,075	-
6	56,3 a	53,3 a	51,9 a	49,8 a	52,8		Ŷ= 55,993 - 1,049x	0,98
					DE[4] 5%/h (%)			
0	13,5	14,7	16,2	17,9	15,6 b			
6	16,4	17,6	18,9	19,9	18,2 a	3,3	Ŷ= 14,891 + 0,666x	0,99
Médias	14,9	16,2	17,6	18,9				
					DE[4] 8%/h (%)			
0	9,4	10,2	11,1	12,2	10,7 b			
6	11,1	11,9	12,9	13,6	12,4 a	4,9	Ŷ= 10,193 + 0,453x	0,99
Médias	10,2	11,0	12,0	12,9				
					Tempo de Colonização (h)			
0	0,2	0,9	2,1	2,7	1,5 b			
6	3,5	3,7	3,6	3,5	3,6 a	40,8	Ŷ= 1,854 + 0,225x	0,99
Médias	1,8	2,3	2,8	3,1				

Médias seguidas de letras iguais entre colunas não diferem pelo Teste F (P<0,05). R^2 = coeficiente de determinação. C.V. (%) = coeficiente de variação.
[1]fração potencialmente degradável; [2]taxa de degradação da fração "b"; [3]fração indigestível da fibra; [4]degradabilidade efetiva.

Nos resultados da degradabilidade efetiva (5 e 8%/h), e o tempo de colonização, observou-se que a adição da ureia no tratamento do resíduo de algodoeira difere do tratamento sem ureia. Esse aumento da DE (5 e 8%/h) passou em média de 15,6 para 18,2% e 10,7 para 12,4%, respectivamente, com o tratamento químico da ureia (6%).

Deve ser levado em conta que quanto menor o tempo de colonização, mais rapidamente a microbiota ruminal conseguirá degradar o alimento, com isso, alimentos de baixa degradabilidade ruminal necessitam de um tempo mais longo para a ação dos microrganismos ruminais.

Carvalho et al. (2007), estimando os parâmetros ruminais da fração fibrosa do bagaço de cana-de-açúcar, com doses de ureia (0; 2,5; 5,0 e 7,5%), verificaram decréscimo na fração indigestível "I", com valores que foram de 61,34 para 36,07%, e aumentos na fração "b", que foram de 38,66 para 63,93%, enquanto que neste presente trabalho os valores da fração "I" e "b", foram de 52,1 para 52,8 e 47,9 e 47,2,

respectivamente, com pouca eficácia do tratamento com a ureia, demonstrando melhores efeitos realizados nestes paramentos devido à ação das enzimas.

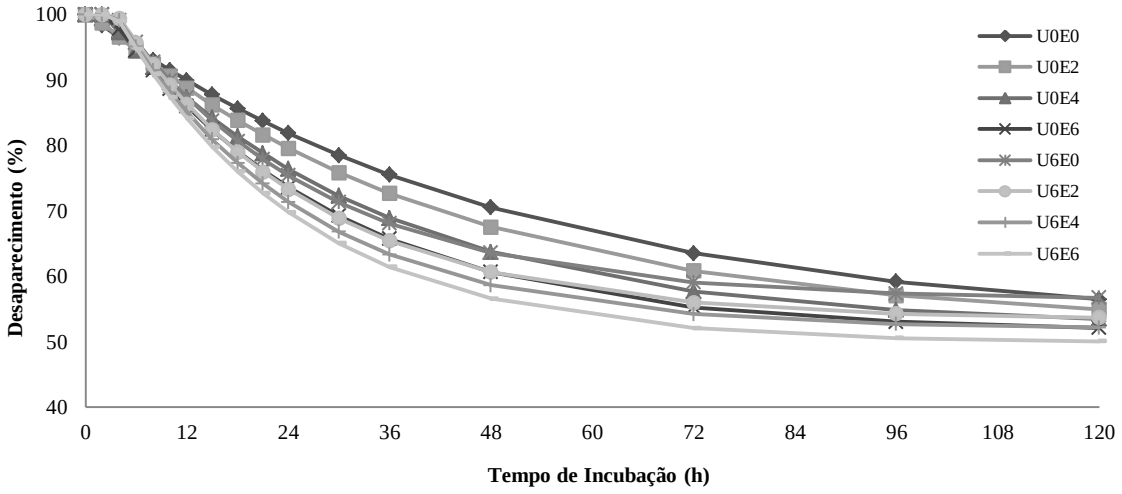


Figura 5. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas.

Ainda segundo estes autores, os mesmos verificaram que a DE (5 e 8%/h) da FDN foram de 14,50 para 27,61% (DE 5%) e 10,54 para 20,59% (DE 8%), com a adição de 7,5% de ureia (base MS), aumentos bem superiores que os observados no presente estudo, em que foram de 15,6 para 18,2% (DE 5%) e 10,7 para 12,4% (DE 8%), porém mais significativo, reforçando os relatos da literatura de que, em volumosos amonizados, ocorre solubilização parcial da hemicelulose e expansão da parede celular, permitindo desta forma, que os microrganismos do rúmen tenham maior superfície específica para se aderirem e, consequentemente, aumentar a degradabilidade ruminal do material.

Para avaliação dos resultados do tratamento biológico com as enzimas, as frações “b” e “I”, apresentaram efeitos significativos somente quando pré-tratados com 6% de ureia. Na fração “b” houve efeito linear crescente de 1,04 unidades percentuais em relação ao tratamento sem aplicação da enzima, e na fração “I”, o efeito foi linear decrescente de 1,04 unidades percentuais para cada 1% de enzimas fibrolíticas adicionadas, em relação ao tratamento sem aplicação da enzima. Para fração “c”, as enzimas obteve efeito linear positivo para os dois níveis de ureia (0 e 6%), com aumentos de 0,003 e 0,0008 unidades percentuais para cada 1% de enzimas, em relação ao tratamento sem aplicação da enzima.

Enquanto os resultados das enzimas sobre os paramentos DE (5 e 8%/h) e *Lag Time*, obteve efeito linear positivo, com aumentos de 0,67; 0,45 e 0,22 unidades percentuais para cada 1% de enzimas adicionado, em relação ao tratamento sem aplicação da enzima. Este resultado evidencia o efeito das enzimas fibrolíticas que proporcionaram maior permanência dos microrganismos sobre a fibra, aumentando a degradabilidade potencial da fração fibrosa deste volumoso.

Os resultados dos parâmetros da degradabilidade "*in vitro*" da fibra em detergente ácido não obteve interação significativa (P>0,05) entre os tratamentos com ureia e enzimas fibrolíticas (Tabela 12). Na avaliação dos resultados do tratamento químico com ureia, as frações "b", "c" e "I", não apresentou efeito significativo (P>0,05). Nos resultados do degradabilidade efetiva (5 e 8%/h), o tratamento com ureia obteve efeito significativo e superior em relação ao tratamento sem ureia, com aumento de 5 e 4,64%, respectivamente.

Tabela 12. Parâmetros médios da degradabilidade ruminal *in vitro* da fibra em detergente ácido do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ureia (%)	**Enzimas (%)** 0	2	4	6	Médias	C.V(%)	Equação	R^2
					b[1] (%)			
0	45,0	46,3	47,2	48,2	46,7 a			
6	45,5	47,1	48,2	49,7	47,6 a	3,2	Ŷ= 45,331 + 0,603x	0,99
Médias	45,3	46,7	47,7	48,9				
					c[2] (%/h)			
0	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03 a			
6	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03 a	20,5	Ŷ= 0,034 + 0,0015x	0,97
Médias	0,03	0,04	0,04	0,04				
					I[3] (%)			
0	55,0	53,7	52,8	51,8	53,3 a			
6	54,5	52,9	51,8	50,3	52,4 a	2,8	Ŷ= 54,669 - 0,603x	0,99
Médias	54,7	53,3	52,3	51,1				
					DE[4] 5%/h (%)			
0	17,8	19,5	20,8	22,0	20,0 b			
6	18,3	20,4	21,9	23,4	21,0 a	5,4	Ŷ= 18,211 + 0,767x	0,99
Médias	18,0	20,0	21,3	22,7				
					DE[4] 8%/h (%)			
0	13,1	14,7	15,6	16,8	15,1 b			
6	13,6	15,3	16,6	17,8	15,8 a	5,6	Ŷ= 13,496 + 0,649x	0,99
Médias	13,4	15,0	16,1	17,3				

Médias seguidas de letras iguais entre colunas não diferem pelo Teste F (P<0,05). R^2 = coeficiente de determinação. C.V. (%) = coeficiente de variação. [1]fração potencialmente degradável; [2]taxa de degradação da fração "b"; [3]fração indigestível da fibra; [4]degradabilidade efetiva.

Carvalho et al. (2007), estimando os parâmetros ruminais da fração fibrosa da FDA do bagaço de cana-de-açúcar, com doses de ureia (0; 2,5; 5,0 e 7,5%), verificaram decréscimo na fração indigestível "I", com valores que foram de 63,27 para 43,15%, e

aumentos na fração “b”, que foram de 36,73 para 56,85%, apresentando melhores resultados que os deste presente trabalho, no qual não foram significativos os efeitos da amonização sobre estes paramentos.

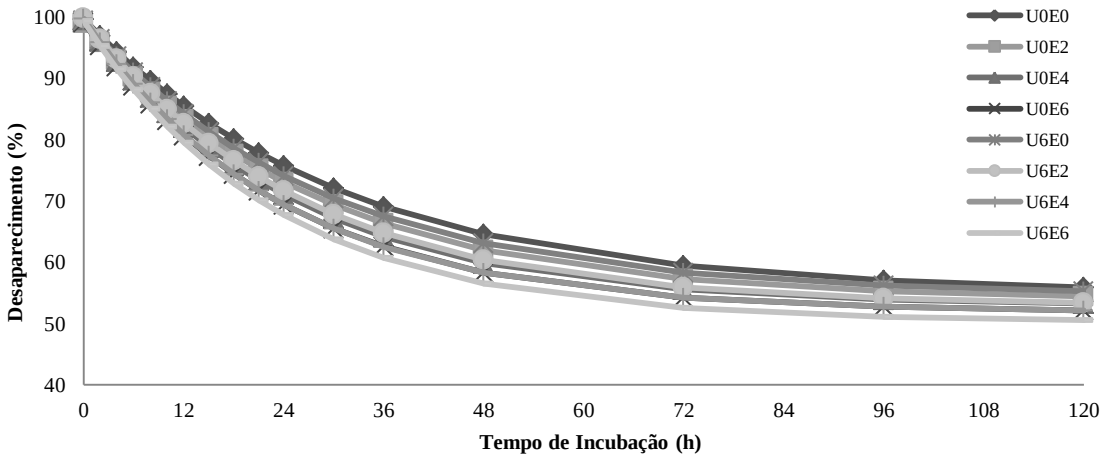


Figura 6. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da fibra em detergente ácido do resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas exógenas.

Ainda segundo estes autores, verificaram que a DE (5 e 8%/h) da FDA foram de 10,49 para 22,60% (DE 5%) e 7,35 para 16,6% (DE 8%), com a adição de 7,5% de ureia (base MS), sendo que neste presente trabalho os resultados alcançados foram bem similar, porém, com a utilização de 6% de ureia. Sobre os efeitos do tratamento enzimático obteve um efeito linear para todos os paramentos, com aumentos de 0,6; 0,0015; 0,76 e 0,65, para os paramentos das frações “b”, “c”, além da DE 5 e 8%/h, respectivamente. Enquanto que a fração “I” apresentou efeito linear negativo, com redução de 0,60, para cada 1% de enzimas aplicadas no tratamento do resíduo de algodoeiras.

Conforme sugerido por Elwakeel et al. (2007) relataram que a degradação de MS é aumentada quando as enzimas são pré-incubados com a forragem, destacando-se a importância da adsorção e ligação da enzima ao substrato antes da alimentação (Forwood et al., 1990; Beauchemin et al., 2003) e da criação de um complexo enzima-alimento estável (Kung et al., 2000). Como sugerido por estes autores, neste presente trabalho a ação das enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira tratada por 24 horas, foi eficaz para melhora a digestibilidade da fração fibrosa do material em estudo.

CONCLUSÕES

O tratamento associando a ureia e enzimas fibrolíticas apresenta um incremento na produção de gases, com melhorias na degradação dos carboidratos fibrosos e não fibrosos e aumento na produção total de gases.

A utilização das enzimas fibrolíticas é mais eficaz que a ureia para melhoria da degradabilidade ruminal *in vitro* da MS, FDN e FDA, proporcionando aumento na degradabilidade potencial e efetiva do resíduo de algodoeira.

A ureia reduz a fração solúvel do material, interferindo na degradabilidade efetiva, apesar de sua utilização promover um aumento na taxa de degradação da fração potencialmente degradável.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, G.; PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; HERRERA, J.G.; GARCÍA, J.C.; GONZALEZ, S.S.; BÁRCENA, R. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal digestibility in steers fed high fiber rations. **Livestock Science**, v.121, p.150–154, 2009.

ANKOM TECHNOLOGY - ***In Vitro* True Digestibility using the DAISY II Incubator** [on line], 2010. Disponível em< http:// www.ankom.com> Acesso em 12 de outubro de 2011.

BAILEY, M. J.; BIELY, P.; POUTANEN, K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. **Journal of Biotechnology**, v.23, p.257–270, 1992.

BARRIOS-URDANETA, A.; VENTURA, M. Use of dry ammoniation to improve the nutritive value of *Brachiaria humidicola* hay. **Livestock Research for Rural Development**, v.14, n.4, p.56–62, 2002.

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.E37–47E, 2003.

BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., MAEKAWA, M., MORGAVI, D.P., KAMPEN, R. Evaluation of a non starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal Dairy Science**, v.83, p.543–553, 2000.

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

BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. *In vitro* gas production: a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Nutrition**, v. 77 n. 1, p. 24-34, 1997.

BLÜMMEL, M.; MGOMEZULU, R.; CHEN, X.B.; MAKKAR, H.P.; BECKER, K.; ØRSKOV, E. R. The modification of an in vitro gas production test to detect roughage related differences *in vivo* microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v. 133, p.335-340, 1999.

CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; SILVA, R.R.; MENDES, F.B.L.; PINHEIRO, A.A.; SOUZA, D.R. Degradabilidade *in situ* da matéria seca e da fração fibrosa do bagaço de cana-de-açúcar tratado com uréia. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.3, p.447-455, 2007.

CARVALHO, I.P.C., DETMANN, E., MANTOVANI, H.C.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; COSTA, V.A.C.; GOMES, D.I. Growth and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from rumen fluid according to energy or nitrogen source. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1260-1265, 2011.

CRUZ, P.G.; FIGUEIREDO, M.P.; PEREIRA, L.G.R.; BERGAMASCHI, K.B.; RODRIGUES, C.S.; RECH, C.L.S. Fracionamento e cinética da fermentação ruminal *in*

vitro dos carboidratos de cinco variedades de cana-de-açúcar. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.4, p.784-793, 2010.

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 Tecnology**, v.145, p.68–83, 2008.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.V.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S., LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. INCT – Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2012. 214 p.

ELWAKEEL, E.A., TITGEMEYER, E.C., JOHNSON, B.J., ARMENDARIZ, C.K., SHIRLEY, J.E. Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs. **Journal Dairy Science,** v.90, p.5226–5236, 2007.

ELWAKEEL, E.A.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, B.J.; ARMENDARIZ, C.K.; SHIRLEY, J.E. Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs. **Journal of Dairy Science,** v.90, p.5226–5236, 2007.

EUN, J.S., BEAUCHEMIN, K.A. Relation - ship between enzymatic activities and in vitro degradation of alfalfa hay and corn silage. **Animal Feed Science and Tecnology,** v.14, p.53-67, 2008.

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

FIGUEIREDO, M. P.; MAURICIO, R. M.; PEREIRA, L. G. R. et al. Determinação entre pressão e volume através da fermentação da raiz de mandioca tratada com uréia, feno de Tifton 85 e silagem de milho para a instalação da técnica in vitro de produção de gás. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria. 2003. (CD-ROM).

FORWOOD, J.R., SLEPER, D.A., HENNING, J.A. Topical cellulose application effects on tall fescue digestibility. **Agronomy Journal**, v.82, p.909–913, 1990.

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.; ODONGO, N.E.; KE -BREAB, E.; VALIZADEH, R.; EFTEKHAR SHAH-RODI, F.; FRANCE, J. Effects of abomasal infusion of cottonseed oil and dietary enzyme supplementation on dairy goats. **Animal Feed Science and Tecnology,** v.16, p.389-396, 2007.

KHAZAAL, M. T.; DENTINHO, M. T.; RIBEIRO, J. M. Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays fed to sheep: comparison between using fibre

components, in vitro digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. **Journal of Animal Science**, v. 61, n. 3, p. 527-538, 1995.

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.

KRUEGER, N.A.; ADESOGAN, A.T.; STAPLES, C.R.; KRUEGER, W.K.; KIM, S.C.; LITTELL, R.C.; SOLLENBERGER, L.E. Effect of method of applying fibrolytic enzymes or ammonia to Bermuda grass hay on feed intake, digestion, and growth of beef steers. **Journal Animal Science**, v.86, p.882-889, 2008.

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

MAKKAR, H.P.S. 2001.**Recent advances in in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources**. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/007/y5159e/y5159e05.htm Acesso em: 21 de setembro de 2013.

MARTINS, A.S.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T.; PRADO, I.N.; LEMPP, B.; PAULA, M.C. Degradabilidade *in situ* e observações microscópicas de volumosos em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas exógenas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1927-1936, 2007.

MAURÍCIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S.M.S.; OWEN, E.; CHANNA, K.S.; THEODOROU, M.K. A semi-automated *in vitro* gases production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, n. 4, p.321-330, 1999.

MCALLISTER, T.A.; HRISTOV, A.N.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; CHENG, K.J. Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. Ed. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK, p. 273-298, 2001.

McDONALD, I. 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v.96, p.251-252, 1981.

MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1437-1446, 1980.

MORGAVI, D.P.; BEAUCHEMIN, K.A.; NSEREKO, V.L. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science,** v.83, p.1310–1321, 2000.

MUNIZ, E.B.; MIZUBUTI, I.Y.; PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; RIBEIRO, E.L.A., ROCHA JUNIOR, J.N.; CAPELARI, M.G.M.; BRITO, V.M. Cinética de degradação ruminal de carboidratos de volumosos secos e aquosos: técnica de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p. 1191-1200, 2011.

PAIVA, J.A.J.; GARCIA, R.; QUEIROZ, A.C. Efeito dos níveis de amônia anidra e períodos de amonização sobre os teores de compostos nitrogenados e retenção de nitrogênio na palhada de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, p.672-682, 1995.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.9, p.1063- 1073, 1993.

PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; MORENO, R.; GONZÁLEZ, S.S.; ROBINSON, P.H.; MENDOZA, G.; ÁLVAREZ, G. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestibility of total mixed rations fed to lambs. **Animal Feed Science and Tecnology**, v.142, p.210–219, 2008.

PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, O.G.; CECON, P.R.; SILVA, F.F.; SILVA, P.A.; ÍTAVO, L.C.V. Degradabilidade do bagaço de cana-de-açúcar tratado com amônia anidra e, ou, sulfeto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1071-1077, 2004.

REDDISH, M.A.; KUNG JR., L. The effect of feeding a dry enzyme mixture with fibrolytic activity on the performance of lactating cows and digestibility of a diet for sheep. **Journal of Dairy Science,** v.90, p.4724–4729, 2007.

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. **Amonização de volumosos**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP,1993. 22p.

SAS, **Statistical Analysis System.** Software, version 9.1.3 Cary: SAS Institute, 2002.

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**, v.82, p.996-1003, 1999.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX D.G, RUSSELL J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577, 1992.

STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **User's guide statistics**: version 8.0 edition. Cary, 1999. 956p.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; MCALLAN, A.B.A simple gas production method using a pressure transducer to determine fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology,** v.48, p.185-197, 1994.

VELÁSQUEZ, P.A.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A.; RIVERA, A.R.; DIAN, P.H.M.; TEIXEIRA, I.A.M.A. A cinética da fermentação e taxas de degradação de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte estimadas pela técnica de produção de gás *in vitro*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.9, p.1695-1705, 2009.

VIANA, P.T. **Avaliação nutricional da torta de algodão proveniente da extração do óleo sob diferentes condições de processamento**. 2012. 129p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

WEISS, B.; UNDERWOOD, J. **Improving lower quality dry forages by ammoniation.** In: The Ohio State University Extension Agronomy Facts publication. Department of Horticulture and Crop Science, The Ohio State University, Columbus, OH, USA, 1995.

WILLIS, C. M.; STALLCUP, O. T.; KREIDER, D. L. Influence of sodium hydroxide and enzyme additions on nutritive values of rice straw**. Journal of Animal Science**, v. 50, n.2, p.303-308, 1980.

WOOD, T. M.; BHAT, M. K. Methods for measuring cellulase activities. In: W. A. Wood and S. T. Kellogg. **Methods in enzymology**, v.160, p.87-112, 1988.

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, p.391-403, 1999.

V – CAPÍTULO III

CONSUMO, DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E DESEMPENHO DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM RESÍDUO DE ALGODOEIRA TRATADO COM UREIA E ENZIMAS FIBROLÍTICAS

Resumo: Objetivou-se avaliar o consumo, digestibilidade e ganho de peso de cordeiros consumindo dietas contendo resíduo de algodoeira tratado com uréia e enzimas fibrolíticas como único volumoso, em confinamento. Foi utilizado o resíduo de algodoeira, pré-tratado com 6% de uréia e quatros níveis de enzimas fibrolíticas (0, 2, 4 e 6%, base na MS) (75% celulase e 25% hemicelulase) além de um tratamento controle sem adição de ureia e enzimas. Foram utilizadas dietas isonitrogenadas e isoenergéticas, que continham o resíduo de algodoeira, milho, farelo de soja e minerais no concentrado, em uma relação volumoso concentrado de 50:50, na base da MS. O consumo médio foi de matéria seca (1311,4); matéria orgânica (1189,9); proteína bruta (254,1); extrato etéreo (44,1); fibra em detergente neutro (748,9); fibra em detergente ácido (487,9); carboidratos fibrosos (670,4) e nutrientes digestíveis totais (810,0) g/dia. Nos resultados do consumo de CNF verificou-se diferença das dietas com aplicação de enzimas (2, 4 e 6%) em relação ao grupo controle. Para efeito das dietas experimentais com adição de enzimas no consumo de CNF, os mesmos apresentaram um comportamento linear positivo. Nos resultados da digestibilidade aparente dos nutrientes, sendo que os dados da digestibilidade aparente da proteína bruta e extrato etéreo não apresentaram diferenças significativas (P>0,05) entre as dietas com aplicação de enzimas e a dieta controle. Em relação aos níveis de enzimas utilizados, há aumento linear para digestibilidade da MS, MO, CNF e NDT, e redução da digestibilidade da FDN, FDA e CF. Os valores médios das dietas com as enzimas fibrolíticas não apresentaram efeito significativo frente aos animais do grupo controle, sobre os dados de desempenho avaliados. A utilização conjunta da amonização e enzimas fibrolíticas não apresentou eficácia para melhorar o desempenho de cordeiros da raça Santa Inês consumindo resíduo de algodoeira como único volumoso.

Palavras – chave: confinamento, ruminantes, volumoso.

INTAKE, NUTRIENT DIGESTIBILITY AND PERFORMANCE OF LAMBS FED WITH COTTON INDUSTRIAL PROCESSING RESIDUE TREATED WITH UREA AND FIBROLYTIC ENZYMES

Abstract: The objective was to evaluate intake, digestibility and weight gain of lambs fed diets containing of cotton industrial processing residue, treated with urea and fibrolytic enzymes as the only roughage in feedlot. The cotton industrial processing residue, pre-treated with 6% urea and four levels of fibrolytic enzymes (0, 2, 4 and 6%, DM basis) (75% cellulase and 25% hemicellulase) was used and a control treatment without adding urea and enzymes. Isonitrogenous and isocaloric diets were used, containing the residue of cotton, corn, soybean meal and minerals in the concentrate, in concentrated forage 50:50, in DM basis. Isonitrogenous and isoenergetic diets were used, with the cotton industrial processing residue, corn, soybean meal and minerals in the concentrate, in a 50:50 forage to concentrate, DM basis. Average consumption was: dry matter (1311.4); organic matter (1189.9); crude protein (254.1); ether extract (44.1); neutral detergent fiber (748.9); acid detergent fiber (487.9); fiber carbohydrates (670.4) and total digestible nutrients (810.0) g/day. The results of NFC consumption there was difference of enzymatic treatment (2, 4 and 6%) in the control group. For purposes of the enzymes in the NFC intake, they showed a positive linear behavior, an increase of 17.0 percentage units for each 1% of enzymes. The results of apparent digestibility of nutrients, and the data of the apparent digestibility of crude protein and ether extract showed no significant differences (P>0.05) between the enzymatic treatments and the control diet, or between the levels of enzymes in the treatment of residue of cotton, while the others showed significant effect. In relation to the levels of enzymes used, there is a linear increase in digestibility of DM, OM, NFC and TDN, 1.7; 1.3; 1.2 and 1.2 percentage units, reduced digestibility of NDF, ADF and CF 0.3; 0.5 and 0.4 percentage units, respectively. The mean values of treatments with fibrolytic enzymes showed no significant effect (P> 0.05), nor forward with the control group, on the performance data evaluated. The additive use of ammoniation and enzymatic hydrolysis showed no effectiveness for the performance of Santa Inês lambs consuming cotton industrial processing residue as the only forage.

Key words: cellulase, feedlot, hemicellulase, ruminants.

INTRODUÇÃO

A alimentação dos ovinos terminados em regime de confinamento é um fator que onera o processo de produção de animais destinados para o abate. Resíduos de culturas anuais e perenes têm sido utilizados na dieta dos ruminantes, pelo seu baixo preço diante de outros alimentos utilizados no sistema de produção animal. No entanto, estes resíduos agroindustriais, geralmente apresentam baixa qualidade nutricional, com alto conteúdo de lignina e baixos teores de carboidratos solúveis e de proteína bruta.

A utilização da ureia no tratamento químico de volumosos é uma tecnologia de fácil execução no tratamento de subprodutos da agricultura com altos teores de fibra, sendo uma prática viável e uma das alternativas para os pequenos produtores rurais, para aumentar a qualidade dos alimentos fibrosos a serem fornecidos aos animais. A utilização de ureia justifica-se como fonte de nitrogênio pelo seu baixo custo.

O uso das enzimas fibrolíticas possui uma tecnologia voltada para aplicação na indústria de ração. Na nutrição de ruminantes o papel das enzimas seria potencializara utilização dos alimentos fibrosos fornecendo energia e aumentando a eficiência do processo de fermentação ruminal.

Aumentos nos custos de alimentação continuam a estimular o interesse em melhorar a eficiência da produção de ruminantes, e o uso de aditivos como enzimas com atividade fibrolíticas oferece um possível meio de melhorar a digestão de forragem e eficiência de conversão alimentar.

Uma série de efeitos do uso de enzimas fibrolíticas na alimentação de ruminantes tem sido relatada (Beauchemin e Holtshausen, 2011). Algumas formulações de enzimas aumentaram o consumo de matéria seca, digestibilidade *in vivo* da fibra. As respostas aditivas das enzimas variam, dependendo do tipo de animais (requisito de energia do animal e nível de alimentação) a composição da dieta, formulação das enzimas, a taxa de doses e método de aplicação dos produtos enzimáticos (Beauchemin e Holtshausen, 2011).

Objetivou-se verificar a eficácia dos tratamentos enzimáticos e químico no resíduo de varredura de algodoeiras, na alimentação de cordeiros, avaliando o consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e ganho de peso.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor Experimental do Laboratório de Nutrição Animal da UESB – Campus de Vitória da Conquista/BA. Foram utilizados 30 ovinos (15 machos e 15 fêmeas) da raça Santa Inês, com peso vivo (PV) médio de 18 kg, idade entre 90 e 120 dias, alojados em baias individuais, sendo 6 animais de tamanho homogêneo por tratamento. Os animais foram pesados, separados, vermifugados e mantidos em baias individuais, cobertas, com comedouros e bebedouros individuais.

Foi utilizado o resíduo de algodoeira, pré-tratado com 6% de uréia e quatros níveis de enzimas fibrolíticas (0, 2, 4 e 6%, base na MS) (75% celulase e 25% hemicelulase) além de um tratamento controle sem tratamento de uréia e enzimas. Foi utilizado um delineamento em bloco casualizado (DBC), com cinco tratamentos, com quatro níveis de enzimas (0, 2, 4 e 6%, com base na matéria seca) e uma testemunha, com seis repetições (animais) e blocos de animais machos e fêmeas, com 3 animais do mesmo sexo por tratamento.

As enzimas fibrolíticas exógenas utilizadas, foram extraídas dos fungos *Trichoderma reesei* e *Aspergillus aculeatus*. O produto[15] constituiu de celulases e hemicelulases, na forma líquida, de coloração marrom, com densidade de 1,22 g/mL, tendo como condições ótimas para atividade enzimática da celulase 45-50ºC e pH 4,5-6,5, e da hemicelulase 40-60ºC e pH 5,0- 6,5. Esta última, além da hemicelulase, contém outras enzimas, incluindo ß-glucanases, xilanases, arabinases, celulases e pentosanases.

Para a avaliação da atividade das enzimas celulases e hemicelulases, utilizou-se a metodologia descrita Wood e Bhat (1988) e Bailey et al. (1992), tomando como referência glicose padrão (glicose) e xilose padrão (xilose), respectivamente. A atividade da Endoglucanase e Xilanase, para avaliação das enzimas celulases e hemicelulase foi de 2,7180 e 1,6340 µmol. mL^{-1} utilizando 1% de carboximetilcelulose e xilana de aveia como substratos, respectivamente, mostrando a efetividade das enzimas.

Antecipadamente ao início do experimento, foram coletados amostras de fezes para realização da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de todos os animais. Os

[5] Novozymes Latin America Ltda: celulase (Celluclast® 1.5 L) e hemicelulase (Viscozyme® L).

mesmos foram vermifugados com o componente ativo Closantel e receberam vacinas contra Clostridiose (marca Closan, 1 mL para cada 10 kg de PV). A cada 21 dias durante o experimento, amostras de fezes foram coletadas para monitoramento da população de *Strongyloidea* e *Eimeria sp*. (Coccodiose), sendo que resultados acima de 500 OPG e 2000 Oocistos de Eimeria, sendo que estes animais eram tratados novamente utilizando produto com o ingrediente ativo Toltrazurila para controle deste último. Ademais, os animais receberam a aplicação intramuscular suplemento com vitaminas ADE e do complexo B no início do ensaio.

O arraçoamento foi realizado em duas refeições diárias, as 8 e 16 horas, *ad libitum*, durante todo o período experimental. Após o período de adaptação (21 dias) foi realizada uma pesagem, para tomar como base o peso inicial, tendo a duração de 63 dias compreendidos em três períodos de 21 dias (sendo 16 de adaptação e 5 dias de coleta de dados).

Durante a fase de adaptação, foram efetuados ajustes na oferta de alimento, proporcionando, inicialmente, 30% de sobras e no final desta fase, ela foi ajustada para 10% para todos os animais. Os animais receberam água à vontade em bebedouros apropriados.

O resíduo de algodoeiras foi obtido na algodoeira Shayonara em Guanambi/BA. Este resíduo apresentou-se em média de 95% de MS. Foi calculada a quantidade de água para elevar a umidade dos volumosos para 25%. O resíduo foi colocado sobre uma lona plástica, com 4 metros de largura, sendo colocados 1500 kg de resíduos sobre a lona formando medas. Foram preparadas duas medas. Antes do pré-tratamento com a ureia foi adicionado ao material, grãos de soja moída como forma de fonte de urease (1,5% com base na MS).

A ureia foi diluída em água numa caixa plástica de 500 litros, e aplicada por aspersão com regadores nas medas, mexendo-se para homogeneização. Em seguida, o material foi coberto por outra lona plástica, ficando armazenada por 80 dias. Após este período, a lona foi aberta, permitindo aeração do material por cinco dias.

Foram utilizadas dietas isonitrogenadas e isoenergéticas, tendo o resíduo de algodoeira como único volumoso, milho, farelo de soja e sal mineral como concentrado em uma relação volumoso concentrado de 50:50 (Tabela 13), na base da matéria seca. Para atender as exigências nutricionais de ovinos de 20 kg de peso vivo, segundo NRC (2007).

A aplicação das enzimas sobre o resíduo de algodoeira tratado com ureia foi realizada 24 horas antes do fornecimento do alimento aos animais, para melhorar a ação deste tratamento biológico.

Tabela 13. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas à base de resíduo de algodoeira tratado com ureia e enzimas fibrolíticas.

Ingredientes	**Dietas experimentais**				
	Controle	6U0E	6U2E	6U4E	6U6E
	Proporção dos Ingredientes na Dieta				
Resíduo de Algodoeira (g/kg)	500	500	500	500	500
Milho (g/kg)	405	420	420	420	420
Farelo de Soja (g/kg)	45	50	50	50	50
Ureia (g/kg)	20	-			
Mistura Mineral (g/kg)	30	30	30	30	30
	Composição bromatológica das dietas (g/kg)				
Matéria seca[1]	882,3	848,7	853,4	871,9	860,1
Matéria orgânica[1]	917,0	920,7	928,9	919,8	914,6
Proteína bruta[1]	198,5	200,1	201,3	200,4	201,9
Extrato etéreo[1]	35,2	31,1	32,9	34,9	34,3
Fibra em detergente neutro[1]	645,0	596,0	584,5	564,5	527,4
Fibra em detergente ácido[1]	459,5	399,1	380,7	351,0	330,5
Hemicelulose[1]	227,9	227,3	219,8	218,8	217,5
Celulose[1]	260,8	248,3	240,4	238,5	236,8
Lignina[1]	178,0	146,9	130,5	128,0	123,4
Carboidratos fibroso[1]	573,0	534,3	521,3	488,6	480,1
Carboidratos não fibroso[1]	214,4	268,5	272,1	314,0	317,2
Nutrientes digestíveis totais[1]	598,2	621,0	622,5	632,4	643,5

[1] (g/kg); Controle: resíduo de algodoeira sem tratamento com ureia e enzimas fibrolíticas; 6U0E: resíduo com 6% de ureia e sem enzimas; 6U2E: resíduo com 6% de ureia e 2% de enzimas; 6U4E: resíduo com 6% de ureia e 4% de enzimas; 6U6E: resíduo com 6% de ureia e 6% de enzimas. [1]Composição: 120 g de cálcio; 88 g de fósforo; 126 g de sódio; 12 g de enxofre; 55,50 mg de cobalto; 1530 mg de cobre; 75 mg de iodo; 1300 mg de manganês; 15 mg de selênio; 3630 mg de zinco; 1800 mg de ferro e 880 mg flúor (máximo). [2]% da matéria seca.

Para efeito de avaliação do consumo de nutrientes e digestibilidade aparente dos nutrientes, foram considerados os alimentos fornecidos, sobras e fezes durante os cinco dias de coleta de cada período experimental, sendo identificadas e conservadas em freezer (-10ºC) para posterior confecção de uma amostra composta por animal de período, a fim de se realizar as análises pertinentes.

As amostras de alimentos e sobras foram realizadas análises de MS, MM, PB, FDN, FDA, Hemicelulose, Celulose, Lignina e EE utilizando-se os procedimentos descritos por Detmann et al. (2012). Para a estimativa dos teores de carboidratos totais (CT) dos alimentos fornecidos, sobras e fezes, foi utilizada a metodologia proposta por Sniffen et al. (1992), seguindo as equações: CT (%) = 100 – (%PB + %EE + %MM), em que CT representa carboidratos totais; PB a proteína bruta; EE o extrato etéreo e MM a matéria mineral. Os carboidratos não-fibrosos (CNF), a partir da equação: CNF

(%) = CT – FDNcp, em que FDNcp corresponde à fração FDN livre de proteína e matéria mineral (HALL, 2003), sendo este considerado como carboidratos fibrosos (CF).

Para a estimativa dos nutrientes digestíveis totais (NDT), foram utilizadas as equações propostas por Detmann et al. (2010), a partir das fórmulas: NDT (%) = PBadv + CNFadv + FDNd + 2,25 x EEadv, sendo que os teores dos NDT foram estimados a partir das equações sugeridas para animais em crescimento e terminação em consumo voluntário, por Detmann et al. (2007, 2008, 2010), que estimam os teores digestíveis da fração da fibra em detergente neutro digestível livre de cinzas e proteínas (FDNd), além de estimar os teores verdadeiramente digestíveis das frações da proteína bruta (PBadv), carboidratos não-fibrosos (CNFadv) e extrato etéreo (EEadv).

O consumo de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, carboidratos fibrosos e não fibrosos e NDT foi calculado pela diferença entre o oferecido e as sobras, mensurando o consumo em g/dia, em relação ao peso metabólico e peso corporal médio dos animais.

A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi utilizada como indicador interno, sendo determinada nas amostras de alimentos, fezes, e sobras através da incubação ruminal por 288 h de 0,5 g de amostra em sacos ANKOM (*filter bags* F-57) que posteriormente foram lavados em água, fervidos em detergente neutro por uma hora, lavados em água destilada e em acetona e secos em estufa a 65ºC por 72 horas, conforme metodologia proposto por Detmann et al. (2012).

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram calculados segundo equação proposta por Khan et al. (2003), através da seguinte fórmula: CDN = 100 – [(% indicador no alimento x nutriente nas fezes)/(% indicador nas fezes x nutriente no alimento)] x 100, em que: CDN é o coeficiente de digestibilidade do nutriente.

Os dados obtidos foram submetidos a analise de variância e regressão, para avaliar os efeitos do aumento da dose de enzimas sobre as variáveis-resposta, considerando com efeito significativo o nível de 5% de probabilidade, e comparados com a testemunha pelo teste de Dunnett, utilizando Statistical Analyses System - SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de enzima não apresentaram efeito significativo (P>0,05), frente aos animais do grupo controle (Tabela 14), sobre os resultados do consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), expressos em g/dia, g/kg de peso corporal (PC) e g/kg de peso metabólico^{0,75}.

Tabela 14. Consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB) e extrato etéreo (CEE) de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso.

Variáveis	**Dietas com níveis de enzimas fibrolíticas**					C.V. (%)	Regressão
	Controle	0%	2%	4%	6%		
CMS (g/dia)	1129,7	1211,0	1403,2	1403,7	1409,5	13,8	Ŷ= 1356,8
CMS (g/kg^{0,75})	100,0	101,9	117,9	115,8	115,2	12,7	Ŷ= 112,7
CMS (g/kg PC)	44,5	44,6	51,6	50,4	50,0	13,6	Ŷ= 49,2
CMO (g/dia)	1034,6	1116,2	1304,7	1291,4	1202,8	19,5	Ŷ= 1228,8
CMO (g/kg^{0,75})	91,6	94,9	110,2	106,8	99,4	20,4	Ŷ= 102,8
CMO (g/kg PC)	40,8	41,7	48,3	46,5	43,3	20,9	Ŷ= 44,9
CPB (g/dia)	224,9	255,8	282,3	251,6	256,0	19,5	Ŷ= 261,4
CPB (g/kg^{0,75})	19,9	21,8	23,9	20,8	21,2	20,3	Ŷ= 21,9
CPB (g/kg PC)	8,87	9,57	10,46	9,06	9,22	20,8	Ŷ= 9,6
CEE (g/dia)	40,7	38,0	47,0	49,2	45,7	18,5	Ŷ= 45,0
CEE (g/kg^{0,75})	3,6	3,2	4,0	4,1	3,8	19,4	Ŷ= 3,8
CEE (g/kg PC)	1,60	1,42	1,74	1,77	1,64	20,0	Ŷ= 1,6

(g/kg^{0,75})= em gramas por unidade de tamanho metabólico; (%PC) = em porcentagem do peso corporal; R^2 = coeficiente de determinação. CV(%) = coeficiente de variação.

Os resultados do consumo de MS apresentaram média geral de 1,31 kg/dia; 110,2 g/kg^{0,75} e 48,2 g/kg PC, valores estes bem superiores que os observados por Cartaxo et al. (2008), alimentando cordeiros Santa Inês com feno de maniçoba, obtendo médias de 1,12 kg/dia; 85,48 g/kg^{0,75} e 36,3 g/kg PC.

A redução no teor de FDN com o aumento do grau de hidrólise enzimática (Tabela 13), não foi suficiente para influenciar o consumo de MS dos animais, não corroborando com as observações de Mertens (1992), que apontou a FDN como um dos principais fatores de controle do consumo de matéria seca.

A ingestão de MS em porcentagem do peso vivo (%PC) também não foi influenciada pela adição dos níveis de enzima ao alimento. Porém, notou-se neste experimento à medida que os animais foram se desenvolvendo ao longo do tempo, houve um aumento para esta variável, ou seja, conforme se aumentou o peso corporal,

os cordeiros ingeriram, proporcionalmente, maior quantidade de matéria seca em relação ao peso vivo.

O consumo médio de MO, PB e EE foram de 1364,9; 293,1 e 50,9 g/dia, respectivamente, (Tabela 14). Conforme o NRC (2007), esse consumo observado para a MO, PB e de EE seria suficiente para atender aos requisitos nutricionais de cordeiros com 30 kg de peso corporal, com ganho de peso médio diário de 200 g.

A hidrólise enzimática do resíduo de algodoeira não influenciou (P>0,05) o consumo de proteína bruta (PB), possivelmente pelo fato de que as dietas eram isoproteicas (20,04% PB). Para o CPB expresso em g/kg do PC, a variação foi de 9,1 a 10,5 e em g/kg de PM variou de 20,8 a 23,9. Barreto et al. (2004) encontraram valores de consumo de PB variando de 0,71 a 0,8% do peso corporal e 16,68 a 18,53 g/kg de PM. Segundo recomendações do NRC (1985), os valores médios de consumo de PB comprovam que as dietas experimentais supriram as exigências dos animais, mesmo para categorias mais exigentes, como é o caso dos animais deste trabalho.

Verificou-se diferença significativa (P<0,05) dos animais das dietas com tratamento enzimático em relação ao grupo controle somente para o CCNF, expressos em g/dia. Para esse parâmetro, o tratamento sem enzimas não difere em média da dieta controle. Os demais níveis de enzimas obteve média superior em relação aos animais da dieta controle (Tabela 15).

Em relação aos animais das dietas com tratamento enzimático no consumo de CNF, os mesmos apresentaram efeito linear crescente, com aumento de 17,00 g/dia, para 1% de enzimas aplicadas no tratamento do resíduo de algodoeira.

O consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), em g/dia, g/kg do PC e g/kg de PM, variou de 686,6 a 818,2; 24,7 a 30,3 e 56,7 a 69,1, com a hidrólise enzimática no resíduo de algodoeira, porém não influenciou (P>0,05) o consumo de FDN. Barreto et al. (2004) observaram valores variando de 35,82 a 44,25 g/kg de PM e de 1,61 a 1,91 % do PC quando os valores de FDN na dieta variaram entre 47,3 a 52,6%, valores inferiores aos encontrados neste trabalho, devido ao menor teor de FDN das dietas. Os resultados desse presente trabalho também foram inferiores aos obtidos por Pires et al. (2004), que observaram valores médios de 530,0 g/dia, de 16,6 g/kg do PC e de 39,26 g/kg de PM, avaliando dietas com níveis de 0 e 30% de farelo de cacau na alimentação de ovinos Santa Inês.

Tabela 15. Consumo de FDN (CFDN), FDA (CFDA), carboidratos fibrosos (CCF), carboidratos não fibrosos (CCNF) e NDT (CNDT) de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso.

Variáveis	**Dietas com níveis de enzimas fibrolíticas**					C.V.	Regressão	R^2
	Controle	0%	2%	4%	6%	(%)		
CFDN (g/dia)	728,1	724,4	818,2	787,4	686,6	19,4	Ŷ= 754,2	
CFDN (g/kg^{0,75})	64,4	61,1	69,1	65,1	56,7	20,1	Ŷ= 63,0	
CFDN (g/kg PC)	28,7	27,1	30,3	28,3	24,7	20,6	Ŷ= 27,6	
CFDA (g/dia)	517,1	483,4	528,7	486,2	424,3	19,7	Ŷ= 480,7	
CFDA (g/kg^{0,75})	45,8	41,1	44,7	40,2	35,1	20,4	Ŷ= 40,3	
CFDA (g/kg PC)	20,3	18,0	19,6	17,5	15,2	20,8	Ŷ= 17,6	
CCF (g/dia)	664,9	650,3	730,1	680,7	626,2	19,5	Ŷ= 671,8	
CCF (g/kg^{0,75})	57,1	55,3	61,7	56,3	51,8	20,3	Ŷ= 56,3	
CCF (g/kg PC)	25,4	24,3	27,1	24,5	22,6	20,8	Ŷ= 24,6	
CCNF (g/dia)	253,2	342,1	397,2*	456,4*	435,7*	17,7	Ŷ= 356,85 + 16,998x	0,76
CCNF (g/kg^{0,75})	22,4	29,1	33,6*	37,7*	36,0*	18,9	Ŷ= 34,1	
CCNF (g/kg PC)	10,0	12,8	14,7*	16,4*	15,7*	19,6	Ŷ= 14,9	
CNDT (g/dia)	676,9	752,0	877,2	892,5	851,5	19,5	Ŷ= 843,3	
CNDT (g/kg^{0,75})	59,9	64,0	74,1	73,8	70,4	20,4	Ŷ= 70,6	
CNDT (g/kg PC)	26,7	28,2	32,5	32,2	30,7	21,0	Ŷ= 30,9	

(g/kg^{0,75})= em gramas por unidade de tamanho metabólico; (%PC) = em porcentagem do peso corporal; R^2 = coeficiente de determinação. CV(%) = coeficiente de variação. Médias seguidas de * na linha diferem pelo Teste de Dunnett (P<0,05).

O consumo de fibra em detergente ácido (CFDA), em g/dia, g/kg do PC e g/kg de PM, variou de 424,3 a 528,7; 15,2 a 19,6 e 35,1 a 44,7, com a hidrólise enzimática no resíduo de algodoeira, sem efeito significativo (P>0,05). Murta et al. (2011), não verificaram efeitos dos tratamentos (0; 0,75; 1,5 e 2,25%), obtendo valores variando de 163,2 a 172,8 g/dia; 0,8 a 0,7% do PC e 16,5 a 15,4 g/kg de PM respectivamente, com as doses de óxido de cálcio na hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar (0 a 2,25%).

Para o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT), também não se detectou efeito (P>0,05) pelos quatro níveis de enzimas fibrolíticas no resíduo de algodoeira, o que pode ser explicado pela ausência de efeito no consumo de MS e pelo teor de NDT nas dietas, com pouca variação. O consumo médio de NDT (810,02 g/dia) está dentro da faixa preconizado pelo NRC (1985), de 750 e 1.000 g/dia, para animais de 15 e 30 kg, respectivamente. A qualidade do volumoso (resíduo de algodoeira) e o consumo de matéria seca possivelmente tiveram influência no consumo de NDT. Entretanto, Barreto et al. (2004) e Murta et al. (2011) observaram valores inferiores aos encontrados neste trabalho (390 a 499 e 543,7 a 598,8 g/animal/dia), quando utilizaram dietas com valores de NDT próximos aos deste estudo.

Sabe-se que há muitas fontes de variação que podem explicar a ausência de resposta das enzimas exógenas sobre os parâmetros estudados. Existem evidências de que, em dietas que apresentam boa digestibilidade (acima de 60%), como no caso das utilizadas neste ensaio onde elas continham alimentos concentrados contendo milho e farelo de soja com 50% de participação na MS a adição de enzimas não surte efeito no desempenho dos animais, uma vez que a energia não se constitui o nutriente limitante (Beauchemin et al., 2003).

Beauchemin et al. (1995) encontraram efeito positivo da aplicação de enzimas sobre alimentos secos (fenos de alfafa e timothy-grass (Phleum pratense)), mas não em alimento úmido (silagem de cevada). Portanto, esta diferença de efeito sobre as forragens testadas pode ter sido devido as diferentes naturezas das forrageiras ou ao método de aplicação. A falta de resposta quando do uso de enzimas na silagem de cevada indica que o teor de umidade dos alimentos é importante e, possivelmente, afeta a ligação da enzima ao substrato.

Judkins & Stobart (1988) observaram melhora da digestão da fibra em cordeiros alimentados com 90% feno de alfafa e 10% de milho moído, suplementados com enzima. Todavia, este efeito foi anulado quando a dieta passou a ter 25% de milho, sugerindo que os produtos enzimáticos, pelo menos para a espécie ovina, tendem a ser mais eficazes somente para dietas com volumoso (Yang et al., 2000).

Segundo Beauchemin et al. (2003), um dos principais entraves para a realização de pesquisas nesta área é a inconsistência de resultados. Como existe uma variedade de produtos enzimáticos e diversas condições experimentais, as respostas observadas para utilização de enzimas alimentares para ruminantes são muito variáveis. Esta variação pode ser atribuída nas condições às quais a energia não é o nutriente limitante, pela diferença de atividade e características das enzimas suplementadas, por uma super ou subdosagem da atividade enzimática e pelo método inapropriado de fornecimento da enzima para o animal.

Ainda, Colombatto et al. (2003) citaram que essa variabilidade de resposta encontrada quando do uso de enzimas para ruminantes pode ser devido à proporção de forragem na dieta, pH do rúmen e tempo de retenção do alimento no rúmen. A composição e os componentes das dietas às quais as enzimas serão adicionadas também influenciam sua eficácia (Cruywagen & Goosen, 2004).

A variabilidade das respostas em trabalhos desta natureza é tão expressiva que Beauchemin et al. (2003), avaliando 20 estudos e 41 tratamentos, observaram que o aumento médio, com o respectivo desvio-padrão, para a ingestão de matéria seca foi de 1,0 ± 1,3 kg/dia, quando os alimentos receberam enzimas exógenas para bovinos.

Muwalla et al. (2007), avaliando a inclusão de enzimas fibrolíticas sobre a digestibilidade dos nutrientes e desempenho de cordeiros da raça Awassi, alimentados com dietas de alto concentrado (83%, contendo farelo de trigo, grãos de cevada e farelo de soja), também não verificaram diferenças significativas para as variáveis testadas. As médias de ingestão de matéria seca (IMS), ganho médio diário (GMD) e conversão alimentar (CA) foram de 1,078 kg/dia, 0,222 kg/dia e 5,4, respectivamente.

Na Tabela 16, estão dispostos os resultados da digestibilidade aparente dos nutrientes, sendo que os dados da digestibilidade aparente da proteína bruta e extrato etéreo não apresentaram diferenças significativas (P>0,05) entre as dietas com tratamentos enzimáticos e a dieta controle, nem entre os níveis de enzimas no tratamento do resíduo de algodoeira.

Tabela 16. Valores médios da digestibilidade dos nutrientes de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso.

Variáveis	**Dietas com níveis de enzimas fibrolíticas**					CV	Regressão	R^2
	Controle	0%	2%	4%	6%	(%)		
Matéria Seca	39,1	40,2	45,3*	48,2*	50,7*	8,2	$\hat{Y}$= 40,948 + 1,718x	0,97
Matéria Orgânica	40,7	42,3	45,7	48,3	50,1	9,2	$\hat{Y}$= 42,708 + 1,299x	0,98
Proteína Bruta	45,5	40,8	48,3	46,1	48,8	16,7	$\hat{Y}$= 46,0	-
Extrato Etéreo	44,4	44,5	44,7	45,1	45,3	18,0	$\hat{Y}$= 44,9	-
FDN	45,3	40,1	39,9	39,1*	38,4*	9,3	$\hat{Y}$= 40,262 - 0,295x	0,95
FDA	44,4	39,6	38,0	37,3*	36,5*	10,6	$\hat{Y}$= 39,354 - 0,505x	0,96
CF	42,0	37,1	36,8	35,6*	35,0*	8,1	$\hat{Y}$= 37,252 - 0,375x	0,95
CNF	26,2	51,5*	54,4*	56,3*	59,0*	23,6	$\hat{Y}$= 51,642 + 1,223x	0,99
NDT	41,1	45,6	48,7*	50,6*	53,2*	11,5	$\hat{Y}$= 45,814 + 1,240x	0,99

R^2 = coeficiente de determinação. CV(%) = coeficiente de variação. Médias seguidas de * na linha diferem pelo Teste de Dunnett (P<0,05).

Neste trabalho, os teores de PB não influenciaram o CDPB em razão das dietas serem isoprotéicas e foram altos devido ao elevado teor de PB na dieta (20,04%). Segundo Cameron et al. (1991), a digestibilidade da PB aumenta com o teor de PB do alimento. Carvalho et al. (1995), ao justificarem o aumento da digestibilidade aparente da PB, consideraram que, com aumento dos níveis de PB nas rações, houve redução do efeito do nitrogênio metabólico fecal sobre aquela fração. Alves et al. (2003), trabalhando com relação volumoso:concentrado de 50:50 e com níveis crescentes de

energia, observaram valor médio de 77,6% para o coeficiente de digestibilidade da PB, sendo superior que os encontrados neste presente estudo.

Os coeficientes médios da digestibilidade da MS, MO e NDT, observado neste trabalho demonstraram que as dietas com adição de enzimas, apresentando um efeito linear crescente, aumentando 1,71; 1,30 e 1,24 unidades percentuais para cada 1% de enzimas fibrolíticas aplicado no resíduo.

É importante salientar que a redução no teor de FDN com a adição das enzimas fibrolíticas nas dietas, provocou alteração no coeficiente de digestibilidade aparente da MS, possivelmente pela solubilização parcial da hemicelulose e a expansão da celulose. Cardoso et al. (2006) constataram redução na digestibilidade aparente total da MS para as rações com maiores teores de fibra. Souza et al. (2004) observaram CDMS médio de 60,01% em dietas contendo casca de café no concentrado, valor superior ao encontrado neste trabalho, que pode ser justificado pelo teor de FDN das dietas experimentais.

Martins et al. (2006), avaliando silagem de milho ou feno de tifton 85, na proporção de 70% da dieta, tratados ou não com produto enzimático composto por celulase e xilanase, encontraram aumento significativo na digestibilidade (de 31,49 para 39,20% na ausência ou presença do produto, respectivamente) quando a enzima foi adicionada somente ao feno.

A avaliação dos resultados da digestibilidade aparente da FDN, FDA e CF, o tratamento controle apresentou média semelhante dos tratamentos com 0 e 2% de enzimas, porém foi inferior que os tratamentos com 4 e 6% de enzimas. Sobre os resultados do tratamento enzimático, os mesmos não apresentaram efeitos significativos tendo um comportamento linear com redução de 0,20; 050 e 0,37 unidades percentuais para cada 1% de enzimas fibrolíticas aplicado no resíduo de algodoeira.

Em dietas mais fibrosas, como no caso dos fenos, estes possuem maior quantidade de substrato disponível para atuação das enzimas fibrolíticas, ocorrendo maior liberação de carboidratos solúveis, com consequente aumento da digestibilidade da energia, como mencionado por Martins et al. (2006), fato este que ocorreu neste presente trabalho, com a eficácia das enzimas em utilizar os substratos e aumentos na digestibilidade aparente dos carboidratos não fibrosos e NDT.

Este resultado é condizente com vários trabalhos da literatura, que utilizaram enzimas fibrolíticas, principalmente celulase e xilanase, em dietas com volumosos (Beauchemin et al., 1995; Feng et al., 1996).

A digestibilidade da FDN pode ser influenciada pelo conteúdo de componentes da parede celular, além da própria estrutura e forma de organização. Como a relação volumoso e a proporção de concentrado nas dietas foram as mesmas, pode-se afirmar que as diferenças encontradas no coeficiente de digestibilidade da FDN são atribuídas à ação das enzimas fibrolíticas solubilizando parte da parede celular (hemicelulose e celulose) do volumoso (resíduo de algodoeira), mostrando melhora na qualidade da FDN (Tabela 13), corroborando com Van Soest (1994), que relatou como ação dos agentes alcalinos e/ou enzimas agem na solubilização de parte da parede celular dos volumosos de baixa qualidade, o que facilita o ataque dos microrganismos do rúmen à parede celular.

Alves et al. (2003) observaram coeficiente de digestibilidade de 59,71% da FDN, valor superior ao observado neste trabalho, e deve estar relacionado ao teor de FDN do volumoso utilizado (feno de capim-tifton), uma vez que a proporção volumoso:concentrado foi a mesma nos dois trabalhos. Souza et al. (2004) relataram média superior (46,9%) para o coeficiente de digestibilidade da FDN quando utilizaram casca de café na dieta de ovinos. Esse valor, superior ao verificado neste trabalho, pode ser atribuído ao volumoso utilizado por esses autores (feno de Coast-cross).

Nos resultados do CNF, o tratamento controle foi inferior em relação aos tratamentos enzimático, sendo que o tratamento enzimático apresentou um comportamento linear crescente, com aumento de 1,22 unidades percentuais para cada 1% de enzimas fibrolíticas aplicado no resíduo de algodoeira.

Yang et al. (2000), com experimento com ovinos, verificaram que a digestibilidade das dietas não foi afetada pela suplementação enzimática, sendo 75,6; 74,8 e 74,5% para os tratamentos controle, dieta total (DT) e concentrado (CONC), respectivamente. Os autores citaram, portanto, que o método de aplicação das enzimas deve ser considerado para maximizar seus benefícios sobre as dietas e que, quando a digestão do alimento é naturalmente alta, não há melhora na digestibilidade da MS.

Segundo Detmann et al. (2006), diferenças na estimativa da digestibilidade aparente dos CNF são decorrentes de variações de consumo total de CNF inerentes a cada animal, o que resulta em variações na porção metabólica fecal. O aumento da digestibilidade dos CNF neste presente estudo ocorreu devido ao aumento contido nas dietas (Tabela 13), e redução dos carboidratos fibrosos, mostrando a eficiência da hidrólise enzimática.

Os níveis de enzima não apresentaram efeito significativo (P>0,05), nem frente aos animais do grupo controle, sobre os dados de desempenho avaliados (Tabela 16). Os valores para o ganho médio diário (GMD) foram 170; 196; 206; 211 e 215 g/dia, para os tratamentos controle, 0; 2; 4 e 6% de enzimas respectivamente. Estes valores foram iguais ou próximos que os estipulados com estas dietas, porém não foi suficiente para permitir diferenças nas médias.

Murta et al. (2011) obtiveram valores de ganho de peso diário (GPD) variando de 195,0 a 229,9 g/animal/dia com ovinos Santa Inês, alimentados com bagaço de cana-de-açúcar hidrolisado com óxido de cálcio (0; 0,75; 1,5 e 2,25%), sem efeito significativo, valores estes próximos aos encontrado neste presente experimento. Susin et al. (2000) relataram desempenhos superiores para ovinos Santa Inês e observaram GPD de 281 g/dia para cordeiros alimentados com rações contendo em torno de 80% de concentrado.

Tabela 17. Desempenho de ovinos da raça Santa Inês consumindo dietas com resíduo de varredura de algodoeiras tratado com ureia e enzimas fibrolíticas, como único volumoso.

Variáveis	**Dietas com níveis de enzimas fibrolíticas**					C.V. (%)	Regressão	Categorias	
	Controle	0%	2%	4%	6%			Machos	Fêmeas
Peso Inicial (kg)	20,0	20,7	20,6	21,2	21,2	8,7	Ŷ= 20,9	20,3 a	21,2 a
Peso Final (kg)	30,7	33,1	33,6	34,5	34,8	7,2	Ŷ= 34,0	35,5 a	31,2 b
GPT (kg)	10,7	12,4	13,0	13,3	13,6	15,8	Ŷ= 13,1	15,2 a	10,0 b
GMD (g/dia)	170,1	196,2	206,0	210,9	215,1	15,8	Ŷ= 207,0	240,9 a	158,4 b
Conversão Alimentar	6,9	6,4	7,0	6,8	6,7	16,1	Ŷ= 6,7	6,2 b	7,3 a
Eficiência Alimentar	15,3	15,9	14,8	15,0	15,1	18,5	Ŷ= 15,2	16,2 a	14,2 a

R^2 = coeficiente de determinação. CV(%) = coeficiente de variação. GPT = ganho de peso total; GMD = ganho média diário.

O efeito não significativo para o ganho médio diário foi a utilização de animais de diferentes sexos, pois os machos apresentaram um ganho médio superior que os das fêmeas. O efeito não significativo ocorreu devido ao elevado diferença mínima significativa (dms), que foi de 48,8, sendo que a diferença entre o tratamento com 6% de enzima (215,1 g/dia) e o tratamento controle (170,1 g/dia), foi de 45 g/dia, próximo ao de nível de significância. Então neste trabalho demonstra que há influência nas enzimas na melhoria do ganho de peso dos animais, sendo mais preciso com o cordeiros.

Cunha et al. (2008) observaram ganhos de peso superiores a 200 g/dia em experimento com cordeiros recebendo dietas com relação volumoso:concentrado 60:40, tendo como volumoso feno de capim-tifton 85 e palma-forrageira. Yamamoto et al.

(2005), avaliando ovinos Santa Inês puros e ½ Dorset + ½ Santa Inês alimentados com fontes de óleo vegetal, encontraram valores que variaram de 245 a 297 g/dia, superiores aos obtidos neste experimento; entretanto, os autores supracitados trabalharam com dietas contendo 60% ou mais de concentrado, proporção maior que a utilizada neste trabalho (50%).

A conversão alimentar é definida pela quantidade de MS consumida para o ganho de 1 kg de peso corporal. Assim como para o consumo de MS, a conversão alimentar não foi influenciada (P>0,05) pelo tratamento enzimático do resíduo de algodoeira. Os efeitos da conversão alimentar não significativo foi influenciado pelo ganho de peso diário, cujos valores variaram de 6,4 a 7,0 kg de MS para 1 kg de ganho de peso corporal, esta conversão alimentar é consequência do elevado consumo de MS (Tabela 14) apresentado pelos animais.

Cunha et al. (2008) encontraram conversão alimentar de 6,01 a 7,62 para ovinos Santa Inês alimentados com dietas contendo caroço de algodão e 40% de concentrado, valores estes próximo aos encontrado neste presente trabalho. Os dados encontrados neste trabalho também foram semelhantes que os encontrados por Barreto et al. (2004), que encontraram valores variando de 5,59 a 5,88.

Segundo Vicini et al., (2003), parece que a resposta para a suplementação enzimática é altamente dependente do nível de volumoso da ração. Quanto maior sua proporção na dieta, maior a probabilidade de observar resposta positiva sobre o ganho de peso. Entretanto, neste presente experimento não ocorreu o esperado, pois os mesmos contêm 50% da dieta total de volumoso, sendo que o tratamento enzimático realizou-se exclusivamente no volumoso, diferentemente dos demais trabalhos da literatura que geralmente ocorre na dieta total.

Sabe-se que há muitas fontes de variação envolvidas na ausência de resposta das enzimas exógenas sobre os parâmetros estudados. Existem evidências de que, em dietas de alto grão, quando este apresenta boa digestibilidade, com no caso dos grãos de milho e soja utilizados, a adição de enzimas não surte efeito no desempenho dos animais, uma vez que a energia não se constitui o nutriente limitante (Beauchemin et al., 2003).

McAllister et al. (2000) verificaram que a utilização de enzimas fibrolíticas também não foi eficiente em aumentar a ingestão de alimentos ou o ganho de peso diário de cordeiros alimentados com dietas a base de cevada ou feno.

CONCLUSÃO

A utilização simultânea da amonização e hidrolise enzimática não apresenta resultados satisfatórios nestas doses utilizadas para o desempenho de cordeiros da raça Santa Inês consumindo resíduo de algodoeira como único volumoso.

O ganho de peso diário foi influência pelo sexo dos animais neste experimento, sendo que os machos apresentaram resultados superiores em relação às fêmeas.

A utilização das enzimas fibrolíticas é eficiente para melhoria da digestibilidade aparente dos nutrientes, atuando efetivamente na redução da digestibilidade da FDN e FDA e com aumento na digestibilidade da MS, MO, CNF e NDT.

REFERÊNCIAS

ALVES, K.S.; CARVALHO, F.F.R.; VÉRAS, A.S.C.; FERREIRA, M.A.; COSTA, R.G.; SANTOS, E.P.; FREITAS, C.R.G.; SANTOS JÚNIOR, C.M.; ANDRADE, D.K.B. Níveis de energia em dietas para ovinos Santa Inês: Digestibilidade aparente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1962-1968, 2003 (supl. 2).

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, supl.2, p.E37-E47, 2003.

BEAUCHEMIN, K. A.; HOLTSHAUSEN, L. **Developments in enzyme usage in ruminants**. In: Enzymes in Farm Animal Nutrition. M. R. Bedford and G. G. Partridge, ed. CABI Publ., Wallingford, UK, p. 206-230, 2011.

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

CAMERON, M.R.; KLUSMEYER, T.H.; LYNCH, G.L.; CLARK, J.H.; NELSON, D.R. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1321-1336, 1991.

CARDOSO, A.R.; PIRES, C.C.; CARVALHO, D.; GALVANI, D.B.; JOCHIMS, F.; HASTENPFLUG, M.; WOMMER, T.P. Consumo de nutrientes e desempenho de cordeiros alimentados com dietas que contem diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.215-221, 2006.

CARVALHO, F.F.R.; QUEIROZ, A.C.; RODRIGUES, M.T.; FONTES, C.A.A. Efeitos de níveis crescentes de proteína bruta sobre a digestibilidade dos nutrientes em cabras lactantes. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.5, p.852-862, 1995.

COLOMBATTO, D.; MOULD, F.L.; BHAT, M.K.; OWEN, E. Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. A biochemical and *in vitro* rumen degradation assessment. **Animal Feed Science and Technology,** v. 107 (short communication), p.201-209, 2003.

CRUYWAGEN, C.W.; GOOSEN, L. Effect of an exogenous fibrolytic enzyme on growth rate, feed intake and feed conversion ratio in growing lambs. **South African Journal of Animal Science,** v.34 (supplement 2), 2004.

CUNHA, M.G.G.; CARVALHO, F.F.R.; VÉRAS, A.S.C.; BATISTA, A.M.V. Desempenho e digestibilidade aparente em ovinos confinados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de caroço de algodão integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1103-1111, 2008.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; PINA, D.S.; PAULINO, M.F.; VALADARES, R.F.D.; CHIZZOTTI, M.L.; MAGALHÃES, K.A.

Estimação da digestibilidade dos carboidratos não-fibrosos em bovinos utilizando-se o conceito de entidade nutricional em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1479-1486, 2006.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; PINA, D.S.; PAULINO, M.F.; MAGALHÃES, A.L.R.; FIGUEIREDO, D.M.; PORTO, M.O.; CHIZZOTTI, M.L. Reparametrização do modelo baseado na lei de superfície para predição da fração digestível da fibra em detergente neutro em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.155-164, 2007.

DETMANN, E.; MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F.; HENRIQUES, L.T. Desenvolvimento de um sub-modelo bicompartimental para estimação da fração digestível da proteína bruta em bovinos a partir da composição química dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.12, p.2215-2221, 2008.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. Predição do valor energético de dietas para bovinos a partir da composição química dos alimentos. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L. et al. (Eds.). **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 2.ed. Viçosa, MG: DZO-UFV, 2010. p.47-64.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.V.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S., LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. INCT – Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2012. 214 p.

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

JUDKINS, M.B.; STOBART, R.H. Influence of two levels of enzyme preparation on ruminal fermentation, particulate and fluid passage and cell wall digestion in wether lambs consuming either a 10% or 25% grain diet. **Journal of Animal Science,** v. 66, p. 1010-1015, 1988.

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.

MARTINS, A.S.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T.; PRADO, I.N.; MOLETTA, J.L. Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com enzimas fibrolíticas. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.35, n.5, p.2118-2124, 2006.

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.

MERTENS, D.R. Analysis of fiber in feeds and its uses in feed evaluation and ration formulation. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, REUNIÃO

ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29., 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.1-32.

MURTA, R.M.; CHAVES, M.A.; PIRES, A.J.V.; VELOSO, C.M.; SILVA, F.F.; ROCHA NETO, A.L.; FILHO, A.E.; SANTOS, P.E.F. Desempenho e digestibilidade aparente dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas contendo bagaço de cana-de-açúcar tratado com óxido de cálcio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.6, p.1325-1332, 2011.

MUWALLA, M.M.; HADDAD, S.G.; HIJAZEEN, M.A. Effect of fibrolytic enzyme inclusion in high concentrate fattening diets on nutrient digestibility and growth performance of Awassi lambs. **Livestock Science,** v. 111, n. 3, p. 255-258, 2007.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of sheep**. 6.ed. Washington: National Academy Press, 1985. 99p.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Small Ruminants: sheep, goats, cervids and New World camelids**. Washington: National Academy Press, 2007. 362p.

SAS, **Statistical Analysis System.** Software, version 9.1.3 Cary: SAS Institute, 2002.

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.

SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; BERNARDINO, F.S.; ROCHA, F.C.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, O.G.; PIRES, A.J.V. Casca de café em dietas de carneiros: consumo e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6 p.2170-2176, 2004 (supl. 2).

SUSIN, I.; ROCHA, M.H.M.; PIRES, A.V. Efeito do uso do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* ou hidrolisado sobre o desempenho de cordeiros confinados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: SBZ, 2000. (CD-ROM).

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.

YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, F.A.F.; ZUNDT, M.; MEXIA, A.A.; SAKAGUTI, E.S.; ROCHA, G.B.L.; REGAÇONI, K.C.T.; MACEDO, R.M.G. Fontes de óleo vegetal na dieta de cordeiros em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.703-710, 2005.

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.

VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ação simultânea da ureia e enzimas fibrolíticas atua eficazmente na melhoria do valor nutritivo do resíduo de algodoeira, refletindo-se em melhores resultados nas análises laboratoriais.

Diante dos efeitos lineares apresentados na maioria dos resultados da composição bromatológica e degradabilidade ruminal *in vitro*, poderá ser averiguados em trabalhos futuros outros níveis de enzimas fibrolíticas, verificando sua viabilidade econômica e nutricional.

Na avaliação com os animais, a digestibilidade aparente dos nutrientes apresentou efeito positivo das enzimas fibrolíticas. Portanto, a utilização de 6% de ureia e 6% de enzimas, atua eficiente para a melhoria do valor nutricional do resíduo de algodoeira.

Os dados de consumo e ganho de peso foram satisfatórios, pois os tratamentos com enzimas obteve ao final do experimento quase 3 kg a mais em relação ao tratamento controle, fato que não pode ser desprezado, garantindo na prática menor tempo de confinamento.

VII – APÊNDICES

Apêndice A

Apêndice A – Maquinário e processamento utilizado para obtenção do resíduo de algodoeira (Figuras 1A, 2A e 3A).

Figura 1A. Máquina de limpeza e separação dos componentes do algodão.

Figura 2A. Coleta dos componentes do resíduo de algodoeira.

Figura 3A. Acúmulo do resíduo no pátio das algodoeiras.

Apêndice B

Apêndice B – Instalações dos animais durante a condução do experimento (Figuras 1B, 2B e 3B).

Figura 1B. Animais alimentando nas baias experimentais.

Figura 2B. Coleta de fezes para OPG**.**

Figura 3B. Aplicação de vermífugo nos animais.

VII - ANEXOS

ANEXO A

Anexo 1. Metodologia utilizada para avaliação da eficácia da ação das enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas em ensaios padrão para determinação da atividade enzimática sobre carboximetilcelulose e xilana.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal – UESB, Campus de Vitória da Conquista/BA. Para tanto, foi avaliada a atividade enzimática das enzimas (Celulase e Hemicelulase). A enzima hemicelulase, teve sua avaliação seguindo a metodologia descrita por Bailey et al. (1992), tomando como referência xilose padrão. Já a enzima celulase, teve sua atividade enzimática seguindo procedimento adaptado de Wood e Bhat (1988), tomando como referencia glicose padrão.

Para realização da xilose padrão, foi tomando 0,1g de xilose por 100 ml de água destilada (solução estoque), fazendo uma diluição em série obtendo 0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8 mg de Xilose.

Em seguida, usando um Becker de vidro 1 litro, pesando 10 g de NaOH e cuidadosamente adicionando aproximadamente 700 ml de água destilada. Após, mexe-se até que o NaOH seja completamente dissolvido. Em seguida, colocou-se o Becker em uma placa de aquecimento/agitação, aquecendo com agitação contínua. Cuidadosamente adicionou-se 10 g de ácido dinitrossalicílico, 2 g de fenol, 0,5 g de sulfito de sódio e 200 g de tartarato de sódio e potássio. Uma vez que todos os ingredientes foram dissolvidos, transferiu-se o conteúdo para um balão volumétrico de 1 litro e perfazendo-se o volume para 1 litro com água destilada. Conservar a temperatura ambiente em uma garrafa marrom, como o reagente DNS é sensível à luz.

Foi utilizada como substrato de xilana a aveia em flocos (1%). Pesa-se 1 g de aveia sendo homogeneizada em aproximadamente 60 ml de água destilada a 60 ºC. Logo após, aquece até ferver com um agitador magnético de aquecimento. Em seguida, deixe esfriar durante a noite com agitação contínua. No dia seguinte, completar o volume até 100 ml de com água destilada. Em seguida preparou-se o branco. Para o branco utilizou-se 1 ml de substrato + 0,9 ml de tampão + 0,1 ml de água. As enzimas em branco foram constituídas de 0,9 ml de tampão + 0,1 ml de enzima (diluídos em tampão) + 1,0 ml de água destilada.

Para o ensaio, foram utilizados tubos de 15 mL. Em seguida adicionou-se 1,0 mL de substrato e 0,9 ml de solução tampão. Incubou-se este material a 39 ºC por 10 minutos. Após, adicionou-se 0,1 mL de enzima e incuba novamente a 39 ºC por mais 5 minutos. As enzimas e substratos do branco foram incubados também. A seguir, adiciona-se 3 mL de reagente DNS para terminar a reação. Logo após, deixou em banho-maria por 5 minutos, deixando esfriar na água. Assim que esfriar, faz-se a leitura em um esprectrofotômetro a 540 nm, os lotes de xilose e as amostras padrão, a seguir fazer a equação:

Equivalentes de xilose (mg)= a + bx

Onde x é a absorbância obtida após correção para a enzima e os substratos do branco. Equivalente xilose são plotados no eixo Y e os valores de absorbância são plotados no eixo X. As unidades de atividade são então expressos como equivalentes µmol xilose $min^{-1}.ml^{-1}$ de produto da enzima.

Para o ensaio da atividade utilizando a glicose padrão foram pesados 0,1 g de glicose por 100 ml de água destilada (solução estoque), fazendo uma diluição em série para obter 0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8 mg de glicose.

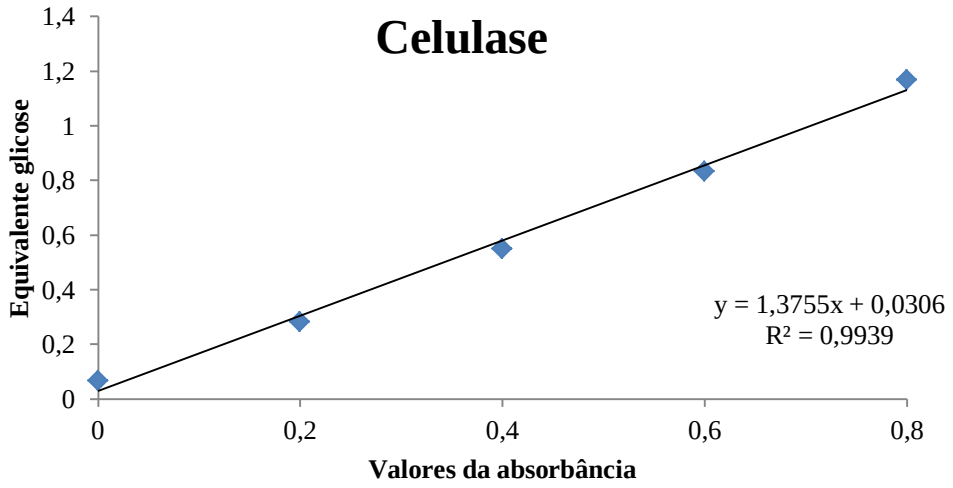
Foram utilizados como substrato carboximetilcelulose (CMC) a 1%. Para os demais procedimentos pesa-se 1 g de CMC sendo diluído em 100 Ml de água destilada, mexendo em lume brando até que esteja completamente dissolvido. Em seguida, adiciona-se azida de sódio (0,02% p/vol) para evitar o crescimento microbiano, sendo armazenados a 4 ºC. Em seguida, prepararam-se os brancos. Para o branco do substrato mistura-se 1 ml de substrato + 0,9ml de tampão + 0,1ml de água. Para o branco da enzima misturou-se 0,9 ml de tampão + 0,1 ml de enzima (diluído em tampão) + 1,0 ml de água destilada.

Para o ensaio, foram utilizados tubos de 15 mL. Em seguida adicionou-se 1,0 mL de substrato e 0,9 ml de solução tampão. Incubou-se este material a 39 ºC por 10 minutos. Após, adicionou-se 0,1 mL de enzima e incubou-se novamente a 39 ºC por mais 5 minutos. As enzimas e substratos do branco foram incubados também. A seguir, adicionou-se 3 mL de reagente DNS para terminar a reação. Logo após, deixou em banho-maria por 5 minutos para esfriar na água. Assim que esfriar, faz-se a leitura em um esprectrofotômetro a 540 nm, o lote de xilose e as amostras padrão, a seguir fazendo a equação:

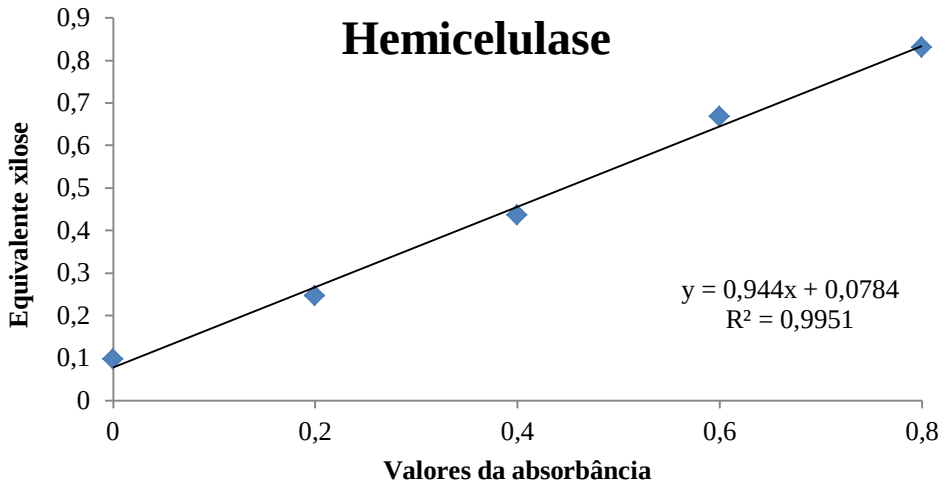
Equivalentes de xilose (mg)= a + bx

Onde x é a absorbância obtida após correção para a enzima e os substratos do branco. Equivalente xilose são plotados no eixo Y e os valores de absorbância são plotados no eixo X. A absorbância é plotado no eixo X para permitir uma inclusão direta de seu valor em uma planilha. As unidades de atividade são então expressos como equivalentes µmol glucose $min^{-1}.ml^{-1}$ de produto da enzima. Todos os ensaios foram realizados em triplicada.

Abaixo estão os dados obtidos com as leituras para celulase (Anexo 1A) e hemicelulase (Anexo 1B).



Anexo 1A. Leitura da enzima celulase para obtenção da curva padrão.



Anexo 2A. Leitura da enzima hemicelulase para obtenção da curva padrão.

Os valores obtidos para celulase e hemicelulase nas leituras foram de 1,954 e 1,648. Colocando esses valores na curva padrão, os mesmos apresentaram valores de 2,718 e 1,634 $\mu mol.mL^{-1}.min^{-1}$, utilizando 1% de carboximetilcelulose e xilana de aveia como substratos. Esses valores estão dentro da faixa de atuação recomendados pelo fabricante das enzimas que situa entre 700 e 50000 EGU/g para celulase e 100 e 10000 FBG/g para hemicelulose, valores correspondidos em $mmol.mL^{-1}.min^{-1}$, mostrando que as enzimas utilizadas possuem efetividade.

ANEXO B

Programação SAS para o modelo não linear da degradabilidade da MS (Orskov & McDonald, 1979).

```
Options no date;
data dmd;
input t p;
y=p;
cards;
0       30.44
6       30.99
12      33.9
18      42.53
24      39.78
48      48.5
72      56.9
96      56.49
120     56.25
run;
proc nlin best = 9;
parms a= 9 to 15 by 1 b=39 to 44 by 1 c=0.03 to 0.05 by 0.005;
model y=a+b*(1-exp(-c*t));
output out=points predicted=yhat residual=yres parms= a b c;
proc print data=points;
proc plot;
plot yhat*t='*' y*t='y'/overlay;
run;
```

OBS.: Para se calcular o *lagtime*, utiliza-se a fórmula proposta por McDonald (1981):

Lagtime = (1/c)*LN(b'/(a'+ b' - a))

Sendo aplicado no conjunto de equações:
Y = a quando o lagtime for maior que o tempo (t) obs.: a = fração solúvel
Y = a' + b'*(1-exp(-c*t)) quando o *lagtime* for menor que o tempo (t)

Anexo C

Programação SAS para o modelo não linear da produção de gases *in vitro* (Schofield et al., 1994).

```
DATA UNO;
TITLE ´Produção de gases´;
INPUT INCTIME T1R1;
CARDS;
2       13.6
4       30.5
6       53.7
8       72.9
10      87.3
12      101.4
15      118.5
18      134.7
21      145.7
24      155.7
30      170.1
36      179.5
48      192.2
72      210.3
96      222.2
120     230.6
;
DATA DOS;
SET UNO;
TITLE ´produção de gases´;
PROC NLIN BEST=5;
PARMS A=60 TO 100 BY 10 S=0.06 TO 0.12 BY 0.01 L= 0 TO 10 BY 1
A2= 80 TO 120 BY 10 S2=0.01 TO 0.05 BY 0.01;
MODEL T1R1= A*(1/(1+EXP(2-4*S*(INCTIME-L)))) + A2*(1/(1+EXP(2-
4*S2*(INCTIME-L))));
OUTPUT OUT= T1R1 P=PREDICT R=RESIDUAL;
PROC PRINT;
VAR INCTIME T1R1 PREDICT RESIDUAL;
RUN;
```