

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**ESCOLA DE VETERINÁRIA**

**Colegiado de Pós-Graduação em Zootecnia**

**CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO*, CINÉTICA DE  
DEGRADAÇÃO RUMINAL, COMPORTAMENTO INGESTIVO, CONSUMO,  
DIGESTIBILIDADE E PARTIÇÃO DA ENERGIA EM OVINOS ALIMENTADOS  
COM SILAGENS DE MILHO REENSILADAS.**

**EDUARDO MOURA DE LIMA**

**ESCOLA DE VETERINÁRIA – UFMG**

**BELO HORIZONTE - MG**

**2019**

**EDUARDO MOURA DE LIMA**

**Cinética de fermentação ruminal *in vitro*, cinética de degradação ruminal, comportamento ingestivo, consumo, digestibilidade e partição da energia em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas.**

Tese apresentada ao departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Professor Diogo Gonzaga Jayme.

**Belo Horizonte – Minas Gerais.**

**Escola de Veterinária – UFMG.**

**2019**

L732c Lima, Eduardo Moura de, 1985-  
Cinética de fermentação ruminal *in vitro*, cinética de degradação ruminal, comportamento ingestivo, consumo, digestibilidade e partição da energia em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas / Eduardo Moura de Lima. – 2019. 118 p. : il.

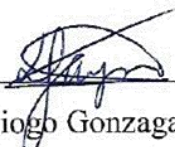
Orientador: Diogo Gonzaga Jayme  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Zootecnia.

Inclui bibliografia

1. Ovino – Alimentação e rações – Teses. 2. Milho – Silagem – Teses. 3. Valor nutricional – Teses. 4. Fermentação no rume – Teses. 5. Digestibilidade – Teses. 6. Energia – Metabolismo – Teses. I. Jayme, Diogo Gonzaga. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Zootecnia. III. Título.

CDD – 636.308 5

Tese defendida e aprovada em 25 de fevereiro de 2019 pela comissão examinadora constituída por:



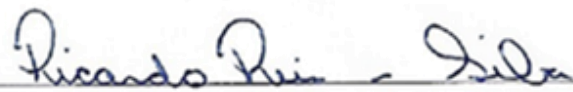
---

Prof. Diogo Gonzaga Jayme  
(Orientador)



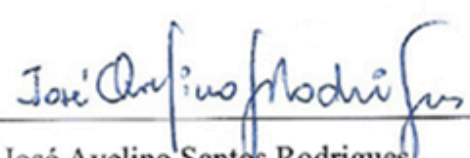
---

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves



---

Prof. Ricardo Reis e Silva



---

Dr. José Avelino Santos Rodrigues



---

Dr. Thierry Ribeiro, Tomich

Belo Horizonte, 25 de fevereiro de 2019.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Ahaci Miguel de Lima e Maria Undina de Lima, que por mais distante que estejam, sempre estarão comigo.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo “Dom” da vida e por estar sempre comigo, me abençoando e me iluminando.

A Dona Dina, minha grande mãe, que me educou, me ensinou a respeitar o próximo, confiou em mim, enfim, me fez um grande cidadão.

Ao meu pai, Senhor Cici, que, apesar do pouco convívio, deixou boas lembranças e ensinamentos que contribuíram para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje.

Aos meus irmãos, Sonia e Edivaldo, pelo incentivo, educação e apoio, por estarem sempre comigo e por serem exemplos para mim.

A minha esposa Bruna pelo amor, amizade, companheirismo e por estar sempre comigo, independentemente da situação

Aos meus sobrinhos Mateus, Rodrigo, Nicole e Regina, por estarem sempre me alegrando e me estimulando a crescer a cada dia.

Aos meus Padrinhos Geraldo e Maria Luci, que me deram meios para que eu ingressasse no ensino superior e chegasse até aqui...

Aos meus Padrinhos Laurinha, Marcos, Maurício e Narcisio, minhas tias Luiza e Euzira, bem como meus primos Antônio Augusto e João Eduardo, que me acolheram, apoiaram e me incentivaram a seguir em frente.

Ao professor Diogo Gonzaga Jayme pela oportunidade, orientação, confiança, ensinamentos e contribuição para a minha vida profissional.

Ao professor Lúcio Carlos Gonçalves pelos ensinamentos, conselhos, motivação, companheirismo, confiança e apoio nesta jornada.

Ao José Avelino, caro Piu, pela contribuição na realização do experimento, apoio e amizade. “*Valeu filho*”.

Aos amigos do grupo de forragem que sempre me apoiaram e me ajudaram.

Aos professores e funcionários da Escola de Veterinária que contribuíram neste trabalho.

Ao Pesquisador Thierry Tomich, que me auxiliou nos primeiros passos no grupo de forragem e também na condução deste trabalho.

Aos membros do Colegiado de Pós-Graduação e Departamento de Zootecnia, pela disponibilidade.

Ao CNPq, FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que participaram deste trabalho e torceram por mim.

## Sumário

LISTA DE FIGURAS .....	11
LISTA DE TABELAS .....	12
RESUMO GERAL .....	14
CAPÍTULO I.....	16
1.INTRODUÇÃO GERAL .....	18
2.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
CAPÍTULO II.....	20
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
2.1.Silagem de milho .....	20
2.2. Perdas em silagens.....	20
2.2.1. Perdas aeróbias em silagens .....	21
2.2.1.1.Perdas aeróbias em silagens reensiladas.....	23
3.Comportamento ingestivo em ruminantes .....	23
3.1.Comportamento ingestivo em ruminantes alimentados com silagens.....	24
4.Consumo e digestibilidade aparente em ruminantes .....	25
4.1.Consumo e digestibilidade em animais alimentados com silagens .....	27
5.Metabolismo de energia em ruminantes .....	28
5.1.Partição de energia na alimentação animal.....	29
5.1.1.Energia bruta.....	29
5.1.2.Energia digestível aparente.....	29
5.1.3.Energia metabolizável .....	30
5.1.4.Energia líquida.....	31
5.1.Técnicas de estudo de metabolismo .....	32
5.1.1.Calorimetria direta.....	33
5.1.2.Calorimetria indireta.....	33
6.Degradabilidade <i>in situ</i> .....	33
6.1.Variações da técnica de degradabilidade <i>in situ</i> .....	34
6.1.1.Características dos animais.....	35
6.1.2.Características dos substratos .....	35
6.1.3.Tamanho de partículas.....	35
6.1.4.Características dos sacos de náilon.....	36
6.1.5.Quantidade de amostra em relação superfície dos sacos de náilon. ....	36

6.1.6. Dieta .....	37
6.1.7. Contaminação bacteriana.....	37
6.2. Modelos de determinação da degradabilidade <i>in situ</i> .....	37
7. Técnica semiautomática de produção de gases .....	38
7.1. Origem dos gases.....	39
7.2. Cinética de fermentação e descrição matemática da produção de gases <i>in vitro</i> .....	40
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41
CAPÍTULO III .....	52
Cinética de fermentação ruminal e degradabilidade <i>in vitro</i> das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar .....	52
Resumo .....	52
1. Introdução.....	52
2. Material e métodos .....	53
2.1. Ensilagem e reensilagem .....	53
2.2. Análise da cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> das silagens de milho reensiladas.....	55
2.3. Análises laboratoriais e determinação das variáveis .....	56
2.4. Análises estatísticas .....	57
3. Resultados.....	57
4. Discussão.....	60
5. Conclusão .....	62
6. Referências bibliográficas .....	62
CAPÍTULO IV .....	66
Cinética de degradação ruminal das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar .....	66
Resumo .....	66
1. Introdução.....	67
2. Material e métodos .....	68
2.1. Ensilagem e reensilagem .....	68
2.2. Análise da degradabilidade <i>in situ</i> das silagens de milho reensiladas.....	69
2.3. Análises laboratoriais e determinação das variáveis .....	70
2.4. Análises estatísticas .....	71
2.5. Modelagem para a determinação da degradabilidade <i>in situ</i> .....	71
3. Resultados.....	72

4.Discussão.....	74
5. Conclusão .....	77
6.Referências bibliográficas .....	78
CAPITULO V .....	81
Comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas .....	81
Resumo .....	81
1.Introdução.....	82
2.Material e métodos .....	83
2.1.Ensilagem .....	83
2.2.Ensaio de consumo e digestibilidade aparente .....	84
2.3.Análises laboratoriais e determinação das variáveis .....	85
2.4.Avaliação do comportamento ingestivo .....	86
2.5.Análises estatísticas .....	87
3.Resultados.....	87
4.Discussão.....	91
5.Conclusão .....	95
6.Referências bibliográficas .....	95
CAPÍTULO VI.....	100
Partição da energia e produção de metano em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar .....	100
Resumo .....	100
1.Introdução.....	100
2.Material e métodos .....	101
2.1.Ensilagem .....	102
2.2.Ensaio de consumo e digestibilidade aparente e respirometria .....	103
2.2.1.Consumo e digestibilidade aparente .....	103
2.2.2.Respirometria .....	104
2.3.Análises laboratoriais e determinação das variáveis .....	104
2.4.Análises estatísticas .....	106
3.Resultados.....	106
4.Discussão.....	108
5.Conclusão .....	111

6.Referências bibliográficas .....	111
CAPÍTULO VII.....	116
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	116

---

## LISTA DE FIGURAS

---

### CAPÍTULO II

---

Figura 01 Partição da energia..... p. 32

### CAPÍTULO III

---

Figura 01 Produção acumulativa de gases *in vitro* pelas silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar..... p. 59

### CAPÍTULO IV

---

Figura 01 Desaparecimento da matéria orgânica das silagens de milho reensiladas ao longo dos tempos de incubação *in situ*. ..... p. 73

Figura 02 Desaparecimento da fibra insolúvel em detergente neutro das silagens de milho reensiladas ao longo dos tempos de incubação *in situ*..... p. 74

---

---

## LISTA DE TABELAS

---

### CAPÍTULO III

---

Tabela 01	Temperaturas ambiente observadas durante a realização da reensilagem.....	p. 54
Tabela 02	Composição química das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 55
Tabela 03	Degradabilidade <i>in vitro</i> das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 58
Tabela 04	Rendimento de metano, valores de pH e produção de gases <i>in vitro</i> das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 58
Tabela 05	Produção de gases <i>in vitro</i> pelas silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 59

### CAPÍTULO IV

---

Tabela 01	Temperaturas ambiente observadas durante a realização da reensilagem.....	p. 68
Tabela 02	Composição química das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 70
Tabela 03	Parâmetros de cinética de degradação ruminal dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 72

### CAPÍTULO V

---

Tabela 01	Temperaturas ambiente observadas durante a realização da reensilagem.....	p. 83
-----------	---	-------

---

---

Tabela 02	Composição química, qualidade e tamanho de partículas das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 86
Tabela 03	Comportamento ingestivo em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 88
Tabela 04	Consumo dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 89
Tabela 05	Digestibilidade dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 90
Tabela 06	Ingestão, excreção e balanço de nitrogênio em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 90

---

## CAPÍTULO VI

---

Tabela 01	Temperaturas ambiente observadas durante a realização da reensilagem.....	p. 102
Tabela 02	Composição química das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 103
Tabela 03	Consumo, digestibilidade e balanço de energia em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 107
Tabela 04	Perdas diárias de energia em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 107
Tabela 05	Emissão de metano em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.....	p. 108

---

## RESUMO GERAL

No Brasil e em algumas regiões do mundo como em Israel e Estados Unidos, as silagens de milho têm sido expostas ao ar pela reensilagem. Esta consiste na transferência de silagens entre propriedades como medida adotada para solucionar a escassez de volumosos. De fato, este procedimento tem suprido a falta de volumosos em muitas propriedades de diversas regiões brasileiras. Porém, tal prática pode alterar o valor nutricional das silagens reensiladas pela sua exposição ao ar. Por isso, objetivou-se determinar o valor nutricional das silagens de milho submetidas à reensilagem nos tempos de zero, 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar. O valor nutricional das silagens de milho reensiladas foi determinado a partir da avaliação da cinética de fermentação *in vitro*, da cinética de degradação ruminal, do comportamento ingestivo, do consumo, da digestibilidade e da partição energia em ovinos. As silagens de milho foram confeccionadas na Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas, MG. Foram confeccionados 80 silos e, após 56 dias de ensilagem, 60 deles foram desensilados e reensilados nos tempos de 12, 24 e 48 de exposição ao ar. Após 56 dias de reensilagem, os silos foram abertos para a realização do ensaio de avaliação da cinética de fermentação *in vitro*, da cinética de fermentação ruminal, do comportamento ingestivo, do consumo, da digestibilidade e da partição energia em ovinos. Para o estudo do comportamento ingestivo, do consumo, da digestibilidade e da partição de energia, foram utilizados 20 ovinos adultos em um delineamento inteiramente casualizado. Os ovinos passaram por um período de 21 dias de adaptação e 5 dias de coleta de amostras de material oferecido - sobras, fezes e urina. Nos 2 últimos dias de coleta foi realizado o estudo de comportamento ingestivo em ovinos. Em seguida, a emissão de CH<sub>4</sub> foi mensurada em câmara respirométrica de fluxo aberto. Durante o ensaio de consumo e digestibilidade, foram realizadas amostragens nas silagens oferecidas. Estas foram pré-secadas e moídas a 5mm e a 1mm, respectivamente, para a realização do ensaio de cinética de fermentação *in vitro* e cinética de fermentação ruminal das silagens de milho reensiladas. A cinética de fermentação ruminal das silagens de milho reensiladas foi determinada pela técnica de incubação ruminal dos sacos de náilon utilizando 4 vacas adultas. As amostras moídas a 5mm foram pesadas em sacos de náilon (50  $\mu$ m) e incubadas no rúmen de bovinos por 0, 6, 12, 24, 48, 96 e 120 horas. Para o experimento de cinética de produção de gases *in vitro*, as amostras moídas a 1mm foram pesadas em sacos Ankom® F-57 e incubadas no interior de frascos de fermentação por 12 e 96 horas. Para todas as variáveis analisadas neste trabalho adotou-se  $P < 0,05$  como nível de significância nas análises de variância e regressões

realizadas. Os diferentes tempos de reensilagem não influenciaram a cinética de fermentação *in vitro*, o comportamento ingestivo, o consumo, a digestibilidade, a partição de energia e a produção de CH<sub>4</sub> em ovinos alimentados com as silagens de milho reensiladas (P>0,05). Para a cinética de fermentação ruminal das silagens de milho reensiladas foi observado que a taxa de desaparecimento (C) da MO para o tratamento controle (zero hora) foi maior, sendo superior em 5,05%, 27,21% e 7,47%, aos tempos de 12, 24 e 48 horas de reensilagem, respectivamente. A fração solúvel (S) da matéria orgânica (MO) foi maior para o tempo de zero hora de reensilagem, sendo superior em 10,56%, 5,95% e 13,75%, aos tempos de 12, 24 e 48 horas de reensilagem, respectivamente. Neste trabalho, somente algumas variáveis relacionadas a cinética de fermentação ruminal sofreram influências dos diferentes tempos de reensilagem. Contudo, tais variações não são de importância prática para a recomendação ou não da reensilagem. Portanto, com base neste estudo, a reensilagem não comprometeu o valor nutricional das silagens de milho.

**Palavras-chave** – balanço de nitrogênio, cinética ruminal, desaparecimento *in situ*, metano, partição energética, perdas aeróbias, tempo de exposição ao ar, transferência de silagens.

## ABSTRACT

In Brazil and in some regions of the world as in Israel and in the United States, corn silages are constantly exposed to the air because of the re-ensilage process. The silage transfer between properties is a valuable measure adopted to solve the bulky scarcity. In fact, this procedure has supplied the lack of bulky in many properties of several Brazilian regions. However, this practice can change the nutritional value of the silage that have been exposed to the atmospheric air. Therefore, this study aimed to determine the nutritional value of the corn silage subjected to re-ensilage in zero, 12, 24 and 48 hours after exposure to the atmospheric air. The nutritional value of the re-ensiled corn silage was determined from the evaluation of the *in vitro* fermentation kinetics, the ruminal degradation of the ingestive behavior kinetics, intake, digestibility and energy partition in sheep. The corn silage were planted at Embrapa Maize and Sorghum in Sete Lagoas, MG. 80 containers were provided to support the silage and, after 56 days of the process, 60 of them were taken out of the containers and re-ensiled after 12, 24 and 48 of exposure to atmospheric air. 56 days after the re-ensilage process, the containers were opened for the execution of the test to evaluate the kinetics of fermentation *in vitro*, the kinetics of ruminal fermentation, the kinetics of the ingestive behavior, intake, digestibility and energy partition in sheep. For the ingestive behavior, intake, digestibility and energy partition studies, 20 adult sheep were used in a completely randomized experimental design. The sheep went through a 21 day adaptation period and a 5 day sample collection of the offered material - leftovers, feces and urine. In the last two days of collection, a study of the ingestive behavior in sheep was conducted. Then, the CH<sub>4</sub> emission was measured in open-flow respirometric chamber. During the consumption and digestibility test, samplings were carried out in the offered silage. They were pre-dried and milled to 5mm and 1mm, respectively, for the achievement of the kinetic assay *in vitro* fermentation and kinetics of ruminal fermentation of the re-ensiled corn silages. The corn silage ruminal fermentation kinetics of the re-ensiled material was determined by ruminal incubation nylon bags technique using 4 adult cows. The samples milled to 5mm were weighed in nylon bags (50 µm) and incubated in the rumen of cattle for 0, 6, 12, 24, 48, 96 and 120 hours. For the *in vitro* gas production kinetics experiment, the samples milled to 1mm were weighed 3536 Ankom® F-57 and incubated inside containers of fermentation for 12 and 96 hours. For all variables analyzed in this study, we adopted  $p < 0.05$  as significance level in the variance analyzes and performed regressions. The different times of the re-ensilage did not influence the *in vitro* fermentation kinetics, the

ingestive behavior, the intake, the digestibility, the partition of energy and the production of CH<sub>4</sub> in sheep fed with re-ensiled corn silage ( $P>0.05$ ). For the ruminal fermentation kinetics of the re-ensiled corn silages it was observed that the rate of disappearance (C) of the organic matter (OM) for the control treatment (zero hour) was higher in 5.05%, 27.21% and 7.47% compared to the 12, 24 and 48 hours re-ensilage corn silage, respectively. The soluble fraction (S) of organic matter was higher for the time of zero hour of re-ensilage, being higher in 10.56%, 5.95% and 13.75% compared to the 12, 24 and 48 hours of re-ensilage, respectively. In this study, only some variables related to the kinetics of ruminal fermentation were influenced by different times of re-ensilage. However, such variations are not of practical importance for the recommendation of re-ensilage. Therefore, based on this study, the re-ensilage did not compromise the nutritional value of the corn silage.

**Keywords** - nitrogen balance, kinetic ruminal *in situ* disappearance, methane, energy partition, aerobic losses, time of exposure to air, silage transfer.

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As silagens de milho têm sido um dos principais volumosos conservados utilizados na alimentação de ruminantes. Todavia, a exposição destas silagens ao ar, antes e durante a sua utilização, tem proporcionado significativas perdas em seu valor nutricional. Estas perdas estão relacionadas ao crescimento de microrganismos (leveduras, fungos e bactérias) que, na presença do oxigênio, se multiplicam rapidamente e consomem os nutrientes solúveis para o seu crescimento, produzindo água, CO<sub>2</sub> e calor. Este processo é denominado de deterioração aeróbia das silagens, sendo uma das principais causas da redução do valor nutritivo dessas.

A alta concentração de nutrientes, a temperatura ambiente e a disponibilidade de oxigênio são os principais fatores predisponentes para a ocorrência da deterioração aeróbia em silagens. De maneira geral, se o oxigênio não for o limitante, quanto maior a influência da temperatura e da concentração de nutrientes, maior será a deterioração aeróbia das silagens. Por isso, dentre as silagens, a de milho é a mais suscetível a deterioração aeróbia, principalmente em regiões de clima quente.

Durante a aquisição e a transferência de silagens entre propriedades, pode ocorrer deterioração aeróbia desses materiais. Esta transferência tem por objetivo suprir a escassez de volumoso que, por causa de uma série de fatores, venha faltar na propriedade. Além disso, algumas propriedades têm se especializado em produzir silagens para propriedades consumidoras. No Brasil, esta transferência tem sido denominada de reensilagem.

Para as silagens de milho, Chen et al. (2014) e Michel et al. (2016) verificaram redução da digestibilidade *in vitro* da matéria seca com a reensilagem. Já na alimentação animal, Gerlach et al. (2013) e Gerlach et al. (2014), verificaram que a exposição das silagens ao ar e a sua reensilagem interferiram na ingestão e no comportamento ingestivo de cabras.

Se por um lado a reensilagem pode suprir a demanda de volumoso de muitas propriedades, por outro, estes materiais podem sofrer deterioração aeróbia por meio de sua exposição prolongada ao ar e, desta forma, comprometer o seu valor nutritivo. Por isso, objetivou-se determinar o valor nutricional das silagens de milho submetidas a reensilagem nos tempos de zero, 12, 24 e 48 horas por meio da cinética de fermentação ruminal *in vitro*,

degradabilidade *in situ*, comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade e partição energética em ovinos alimentados estes materiais.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHEN, Y.; WEINBERG, Z. G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silage on their quality. *Journal Dairy Science*, v. 97, p.406-410, 2014.

GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K.; BÜSCHER, W.; SÜDEKUM, K. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agricultural and Food Science*, v. 22, p.168-181, 2013.

GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K.; BÜSCHER, W.; SÜDEKUM, K. H. Aerobic exposure of Grass silages and its impact on dry matter intake and preference by goats. *Small Ruminant Research*, v.117, p.131-141, 2014.

MICHEL, P. H. F.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; RAPOSO, V. S.; LIMA, E. M., SANTOS, F. P. C. AND JAYME, D. G. Re-ensiling and inoculants application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionicion* sorghum silages. *Grass Forage Science*, v.72, p.432–440, 2016.

## CAPÍTULO II

### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. Silagem de milho

Vários alimentos podem ser conservados na forma de silagem. Entretanto, a planta de milho é o material mais utilizado para a ensilagem. A planta de milho preenche os requisitos básicos para confecção de uma boa silagem, como: teor de matéria seca (MS) entre 30,0% a 35,0%, o mínimo de 3,0% de carboidratos solúveis na matéria natural, baixo poder tampão, além de proporcionar uma boa fermentação microbiana (Nussio et al., 2001).

A silagem de milho é fonte de energia para a alimentação de ruminantes. Os maiores conteúdos de energia estão relacionados à grande participação de grãos na planta de milho a ser ensilada e, conseqüentemente, no material ensilado.

Quanto maior a concentração de grãos no material ensilado, maior será a concentração de amido. Este, por sua vez, faz com que os materiais apresentem maiores valores energéticos, o que pode ser verificado pela concentração dos nutrientes digestíveis totais (NDT). Para as silagens de milho brasileiras, Oliveira et al. (2017) verificaram que as concentrações de amido variaram de 16,3% a 41,8% e as concentrações de NDT variaram de 48,9 a 70%. Além do alto conteúdo de energia, Oshita et al. (2007) acrescenta que a silagem de milho é componente importante na dieta de vacas leiteiras por apresentar fácil mecanização, fácil armazenamento e valor nutricional elevado.

Nos Estados Unidos e na Europa, a silagem de milho é a fonte de volumoso mais utilizada para a alimentação de ruminantes (Cavallarin et al., 2011). No Brasil, Bernardes et al. (2014) verificaram que, para a confecção de silagens, 82,7% dos produtores utilizam o milho sozinho ou em consórcio com outras forrageiras.

Embora a silagem de milho seja um dos principais volumosos utilizados na alimentação de ruminantes, esta tem se destacado como uma das silagens mais propensas as perdas aeróbias devido ao relativo alto valor nutritivo comparado com as silagens de outras culturas.

#### 2.2. Perdas em silagens

Desde a colheita da forrageira até a redução do pH do material ensilado, algumas perdas de nutrientes invariavelmente irão ocorrer. Estas perdas estão relacionadas ao

processo de colheita do material, à respiração das plantas, à ação de enzimas, ao processo de fermentação e à lixiviação que pode ocorrer no silo (Pitt, 1986). De maneira geral, todas estas perdas reduzem a concentrações de nutrientes solúveis e proporcionam um aumento relativo das frações fibrosas das silagens.

A maior da parte dos açúcares originados dos carboidratos não estruturais são fermentados no silo (Bernardes et al., 2011). Contudo, de acordo com McGechan (1990), durante a fase de fermentação no silo, a redução do material digestível é compensada, até certo ponto, pela conversão de parte dos nutrientes não digeríveis em material digestível. Porém, deve-se destacar que a qualidade da forrageira ensilada é sempre inferior ao seu estado fresco (Charmley, 2000).

Em condições ideais de armazenamento e de desabastecimento dos silos, as perdas de MS variam de 12,0 a 16,0% (Holmes et al., 2007). As perdas aeróbias iniciais são menores que 1,0%, as perdas pelo processo de fermentação podem variar de 1,0% a 2,0%, e as perdas por efluentes podem ser de 5,0% a 7,0% (Pitt, 1986).

Ao analisar as perdas descritas por Pitt (1986) e compará-las com as perdas totais descritas por Holmes et al. (2007), é possível verificar que outras formas de perdas ocorrem no material ensilado. Estas perdas estão relacionadas à infiltração de ar, antes e durante a utilização das silagens, e ao desencadeamento de um processo denominado de deterioração aeróbia das silagens.

A deterioração aeróbia das silagens é um dos principais problemas para a rentabilidade das explorações pecuárias no mundo, comprometendo boa parte qualidade dos materiais ensilados (Tabacco et al., 2011).

### **2.2.1. Perdas aeróbias em silagens**

No silo, a presença do oxigênio está relacionada a falha no processo de compactação e vedação do silo, e a exposição das silagens ao ar antes e durante a sua utilização.

Quando as silagens são expostas ao ar, microrganismos oportunistas tornam-se metabolicamente ativos, consumindo os nutrientes solúveis e produzindo calor (Ranjit e Kung, Jr, 1999; Booreani et al., 2008), ou seja, promovendo a deterioração aeróbia das silagens.

As perdas de MS decorrentes da infiltração de ar durante o enchimento do silo variam de 1,0% a 2,0%, enquanto que as decorrentes da aeração na desensilagem variam de 2,0% a 19,0% (Velho et al., 2007).

O processo de deterioração aeróbia das silagens pode ser caracterizado pela degradação dos ácidos orgânicos por ação das leveduras e, ocasionalmente, por bactérias ácido acéticas, resultando em aumento do pH, o que irá permitir o crescimento de fungos e bactérias aeróbias (Tangni et al., 2013). Este processo está associado à redução do valor nutritivo das silagens e da produção animal, aumento do risco de intoxicações e até à morte dos animais que consomem estas silagens (Pitt et al., 1993). Estes riscos estão presentes por que alguns fungos produzem substâncias tóxicas, as micotoxinas, as quais são prejudiciais aos animais e a qualidade do leite (Driehuis et al., 2001).

A deterioração aeróbia das silagens é um processo essencialmente microbiológico. Todavia, os fatores que podem influenciar o crescimento dos microrganismos aeróbios irão afetar diretamente a qualidade das silagens expostas ao ar.

A taxa de deterioração aeróbia das silagens está diretamente relacionada ao aumento da população de microrganismos aeróbios, ao conteúdo de oxigênio, à temperatura ambiente e à disponibilidade de substratos fermentáveis (Holmes et al., 2007).

De acordo com Castro et al. (2006), as silagens mais propensas a deterioração aeróbia são as de milho, uma vez que, além de apresentar um alto conteúdo de carboidratos solúveis, apresentam alto conteúdo de amido. Desta forma, se por um lado a silagem de milho representa uma excelente alternativa para a alimentação animal, por outro lado, ela é uma das silagens mais susceptíveis a deterioração aeróbia.

Quanto aos efeitos da temperatura, Asbheil et al. (2002) e Koc et al. (2009), verificaram que as silagens são mais propensas a deterioração aeróbia em temperaturas ambientes próximas a 30 °C.

A temperatura ambiente e a disponibilidade dos nutrientes são fatores importantes no processo de deterioração aeróbia das silagens. No entanto, o fator mais importante e o único possível de ser controlado, é a disponibilidade de oxigênio.

Muitos fatores podem possibilitar a presença do oxigênio no silo e, conseqüentemente, a deterioração aeróbia das silagens. Normalmente, as perdas decorrentes da exposição aeróbia das silagens estão mais relacionadas aos processos de vedação e ao desabastecimento dos silos. Entretanto, em algumas regiões como Israel, Brasil e Estados Unidos, que foram mencionadas por Chen et al. (2014), Michel et al. (2016) e Erickson et al. (2012), respectivamente, as silagens têm sido expostas ao ar devido à transferência das silagens entre propriedades.

### **2.2.1.1. Perdas aeróbias em silagens reensiladas**

No Brasil, a transferência de silagem entre propriedades tem ocorrido com alta frequência e, tal processo, tem sido denominado de reensilagem.

De acordo com Erickson et al. (2012), a transferência de silagens ocorre devido à falta de quantidades adequadas de dessas e inadequação das instalações para o seu armazenamento. Porém, no Brasil, a transferência de silagens entre propriedades e a sua reensilagem tem ocorre, também, devido a secas prolongadas, limitações territoriais de algumas propriedades para produção de silagens, ao planejamento volumoso inadequado, à redução da disponibilidade de volumosos devido às queimadas e excesso de perdas de silagem no silo. De maneira geral, todos estes fatores resultam em uma menor disponibilidade de volumoso para os animais, fazendo-se necessário adiquir silagens e as reensilar.

Apesar de a reensilagem surgir como uma alternativa para contornar a escassez de volumoso em muitas propriedades, tal procedimento pode ocasionar perdas aeróbias nos materiais a serem reensilados. Isto por que a transferência pode ocorrer em horas, ou até em um a dois dias, no qual a silagem é inevitavelmente exposta ao ar (Chen et al., 2014). Desta forma, devido ao contato do oxigênio com as silagens, este proce/dimento pode aumentar os riscos de crescimento de microrganismos aeróbios que irão promover a deterioração aeróbia dos materiais transferidos.

Em silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar, Lima et al. (2017) não verificaram influência ( $P>0,05$ ) da reensilagem sobre a composição química e a qualidade dos materiais avaliados. Por outro lado, Chen et al. (2014) verificaram redução ( $P<0,05$ ) na digestibilidade *in vitro* da MS das silagens de milho reensiladas após 48 horas de exposição ao ar. Já em silagens de sorgo reensiladas, Michel et al. (2016) observaram redução ( $P<0,05$ ) na digestibilidade *in vitro* dos materiais reensiladas após 24 horas de exposição ao ar.

## **3. Comportamento ingestivo em ruminantes**

O comportamento ingestivo dos ruminantes é determinado por avaliações dos tempos desprendidos pelos animais nas atividades de alimentação, mastigação, ruminação e ócio. Sendo que, a partir do tempo desprendido para a atividade de ruminação e da quantidade de alimento ingerido, é determinada a eficiência de ruminação em relação ao CMS e a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) (Burguer et al., 2000).

Uma série de fatores, em especial o conteúdo FDN e a forma física da dieta, podem comprometer a ingestão de alimentos, causando um efeito direto sobre o comportamento ingestivo dos ruminantes (Bastos et al., 2014).

Na alimentação de cabras leiteiras, Santini et al. (1992) verificaram que o aumento nos conteúdos de FDN (38%, 41%, 43% e 47%) e da fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) (14%, 18%, 22% e 26%) na dieta resultou em um aumento linear no tempo de ingestão (min./dia;  $P < 0,001$ ) e no tempo de ruminação (min./dia;  $P < 0,001$ ).

O aumento do tamanho das partículas e dos conteúdos de FDN resultam em maior tempo de mastigação. Desta forma, o tempo de ruminação tende a aumentar, enquanto a taxa de passagem da digesta tende a diminuir. Neste sentido, Burguer et al. (2000), ressalta que os alimentos concentrados e os fenos finamente triturados ou peletizados reduzem o tempo de ruminação, enquanto volumosos com alto teor de parede celular tendem a aumentar o tempo de ruminação.

O animal que apresenta maior eficiência de ruminação pode consumir mais alimento e ser mais produtivo (Burguer et al., 2000). Por outro lado, a menor eficiência de ruminação resulta em maiores tempos de ruminação e, por consequência, redução dos tempos disponíveis para a ingestão de alimentos.

Além do conteúdo de fibra e tamanho das partículas da dieta, a qualidade da fibra também pode influenciar os tempos despendidos pelos animais para a atividade de ingestão e ruminação. Polli et al. (1995) avaliaram o comportamento ingestivo de bovinos e bubalinos consumindo dietas em que a fonte de volumoso era a cana de açúcar ou a silagem de milho. Os autores verificaram que os animais que consumiam a cana de açúcar apresentaram menor CMS (1,8%) em relação aos animais que consumiam a silagem de milho (2,5%) ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, os animais que consumiam a cana de açúcar apresentaram menor eficiência de ruminação (87,0 minutos Kg/MS) em relação aos animais que consumiam a silagem de milho (62,3 minutos Kg/MS) ( $P < 0,05$ ). Mendonça et al. (2004) também verificaram menor eficiência de ruminação (g de FDN/h) para os animais que consumiam cana de açúcar em relação aos animais que consumiam silagem de milho ( $P < 0,05$ ). A menor eficiência de ruminação verificada para a cana de açúcar está relacionada à qualidade de sua fibra.

### **3.1. Comportamento ingestivo em ruminantes alimentados com silagens**

Os conteúdos de FDN provenientes da forragem e o tamanho de partículas da dieta são os principais fatores que influenciam o comportamento ingestivo dos ruminantes (Van Soest,

1994). No entanto, quando o alimento utilizado é a silagem, além dos conteúdos de fibras e do tamanho de partículas, a qualidade das silagens também deve ser considerada.

O comportamento ingestivo dos ruminantes pode ser alterado pelas transformações químicas que ocorrem nos materiais desde a ensilagem até o seu consumo pelos animais. Desta forma, todos os fatores que implicam em alterações na composição ou nas características do alimento até a sua ingestão pelo animal merecem atenção. Em se tratando de silagens, as alterações promovidas pelo processo de deterioração aeróbia, possivelmente, assumem a maior importância.

Na alimentação de vacas leiteiras, Wichirt et al. (1998) verificaram que imediatamente após a mudança das silagens de boa qualidade para as silagens de baixa qualidade (com deterioração aeróbia), os animais aumentaram o número de visitas ao cocho, porém, reduziram a ingestão de alimento por visita e por dia.

Em silagens expostas ao ar, Gerlach et al. (2013) verificaram que a ingestão de MS foi negativamente correlacionada ( $r=-0,33$ ;  $P<0,05$ ) com a temperatura das silagens durante a exposição aeróbia. Neste estudo, os autores verificaram que a redução da ingestão foi marcada por um aumento na seleção da dieta pelos animais.

#### **4. Consumo e digestibilidade aparente em ruminantes**

Em ruminantes, a ingestão voluntária de alimentos pode ser regulada por fatores de controle em longo prazo, como estado fisiológico e nível de produção do animal, mas também pode ser regulada por fatores em curto prazo (Church, 1995; Mertens, 1994). Em curto prazo, a ingestão de alimentos pelos ruminantes é regulada por mecanismos físicos, químicos e metabólicos, neuro-hormonais e também pela ingestão de água (Coelho da Silva, 2006).

Em ruminantes, a ingestão está relacionada com as características dos alimentos e com o estado fisiológico do animal. Quando as mensurações envolvem as características do alimento, a ingestão pode ser regulada por fatores fisiológicos, quando as dietas apresentam alta concentração energética, e por fatores físicos, quando as dietas contêm alta concentração de fibras de baixa digestibilidade.

As frações fibrosas das forrageiras são compostas por vários polissacarídeos, com predominância para as hemiceluloses e a celulose, e pelos compostos fenólicos, que em sua maior parte são formados pelas ligninas. As hemiceluloses e a celulose, juntamente com a lignina, compõem uma fração do alimento denominado de fibra insolúvel em detergente

neutro (FDN). Já a celulose e a lignina compõem uma fração do alimento denominada de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA). Os conteúdos de FDN estão relacionados ao efeito de enchimento ruminal. Já os conteúdos de FDA estão relacionados com alterações nos valores de digestibilidade das forrageiras (Van Soest, 1994).

Quando as concentrações de energia não limitam a ingestão de alimentos, o CMS está diretamente relacionado com a ingestão de FDN (Mertens, 1994; Allen 2000). Contudo, de acordo com Tomlinson et al. (1991), quando os conteúdos de FDN e FDA da dieta ultrapassam 40% e 25%, respectivamente, a ingestão de alimentos pelos ruminantes começa a ser limitada fisicamente.

Embora existam vários mecanismos de regulação do CMS, a regulação física, provavelmente, se torna o fator primário quando a dieta proporciona o efeito de enchimento ruminal (Allen, 2000). O efeito de enchimento do rúmen varia com o tamanho inicial e a fragilidade da partícula à trituração e com a taxa e a extensão da digestão da FDN (Mertens, 1994). Em relação ao seu volume, as partículas pequenas apresentam maior área exposta para a sua digestão (Buxton et al., 1887). Por isso, em dietas com menores tamanhos de partículas, as taxas de degradação das frações do alimento são maiores. Esta maior taxa de degradação, por sua vez, resulta em maiores taxas de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal do animal.

É reconhecido que os aumentos das frações fibrosas da dieta deprimem a digestibilidade de outros componentes dietéticos, exceto fibra, a qual, geralmente, aumenta sua digestibilidade (Santini et al., 1992). Este aumento ocorre por meio de maior tempo de retenção ruminal da fração fibrosa do alimento. No entanto, o maior tempo de retenção pode comprometer a ingestão de alimentos pelo animal. Desta forma, apesar da fibra ser uma importante fonte de energia para os ruminantes, os seus maiores valores de digestibilidade não estão, necessariamente, relacionados ao maior aporte de energia para o organismo do animal.

Nem todas as frações fibrosas que compõe as plantas são digeríveis, mesmo que permaneça durante muito tempo no rumem. Por outro lado, a maior taxa de passagem da digesta, ou seja, o menor tempo de permanência da digesta no rumem, tende a reduzir a digestão das frações fibrosas. Estas relações foram verificadas por Stesing et al. (1997). Os autores observaram que o aumento da quantidade de concentrado na dieta, ou seja, a redução relativa das frações fibrosas na dieta resulta em aumento na taxa de passagem ( $P=0,002$ ) e em uma menor digestibilidade total da FDN ( $P=0,01$ ). Desta forma, é importante ressaltar

que a taxa de passagem da digesta é uma variável muito importante, tanto em dietas com altos conteúdos de fibras quanto em dietas com baixos conteúdos dessas.

Em condições mais severas, a baixa ingestão de fibra pode alterar a população de microrganismos ruminais e promover uma significativa redução do pH ruminal (Santini 1992). O abaixamento do pH ruminal promove redução da população de bactérias celulósicas e, desta forma, ocasiona redução da digestibilidade das frações fibrosas do alimento. De acordo com Van Soest (1994), quando o pH ruminal atinge valores menores que 6,2, a taxa de digestão é reduzida e o tempo de colonização para degradação celular aumenta.

Devido à maior concentração, menor taxa de digestão e incompleta digestão da fibra, a disponibilidade de energia proveniente da fração fibrosa é limitada. Desta forma, a quantidade de nutrientes ingeridos que realmente é absorvida depende da taxa de fermentação ruminal e do tempo de permanência ao ataque microbiano, pois a fração efetivamente degradada é uma função das taxas de degradação e de passagem (Mello et al., 2006). Neste sentido, de acordo com Combs (2013), a digestibilidade da dieta pode ser resumida como o resultado da fração do alimento potencialmente digestível em relação à taxa de passagem da digesta.

#### **4.1. Consumo e digestibilidade em animais alimentados com silagens**

Durante a confecção de silagens, algumas alterações como o aumento dos conteúdos de MS, a redução dos carboidratos solúveis, o aumento relativo das frações fibrosas, o aumento das concentrações de nitrogênio não proteico e a acidificação do material ensilado inevitavelmente ocorrem.

O aumento dos conteúdos de MS tem sido positivamente correlacionado com o consumo de silagens (Gerlach et al., 2014).

Muitos estudos relacionam os valores de pH diretamente com a ingestão. Todavia, de acordo com Dulphy et al. (1996), o efeito do pH sobre o CMS tem sido diretamente relacionado com a qualidade da fermentação, uma vez que as altas concentrações de amônia, ácido acético e outros constituintes alteram os valores de pH. Desta forma, os valores de pH por si só, não assumem grande importância para justificar as alterações verificadas para o comportamento ingestivo e para a ingestão em animais alimentados com silagens.

Alguns produtos finais da fermentação como o ácido acético, o ácido butírico (Oliveira et al., 2016) e os produtos finais da fermentação de proteínas têm sido associados com a

redução da ingestão de silagens pelos ruminantes. No entanto, McGechan (1990) ressalta que a ingestão diminui drasticamente em silagens que apresentam elevadas concentrações de ácido butírico.

A resposta do animal à silagem é dependente da ingestão e da digestibilidade da forrageira ensilada. A ingestão, na maioria das vezes, é influenciada pelas concentrações dos diferentes produtos da fermentação. Já a digestibilidade está relacionada à composição química da forrageira no momento da ensilagem e as transformações em sua composição química que venham a ocorrer até a silagem ser consumida pelo animal.

As diferenças na digestibilidade entre os cultivares de milho podem estar relacionadas à porcentagem de grãos ou de espigas para determinado estágio de crescimento da planta e à composição morfológica, que difere muito entre cultivares (Vilela et al., 2008). No entanto, a extensão com a qual esta digestibilidade potencial será alcançada irá depender das modificações das frações fibrosas e nitrogenadas durante o processo de fermentação no silo e o nível de suplementação utilizado durante o fornecimento das silagens aos animais (Huhtanen et al., 2002).

Na maioria das plantas forrageiras, o avanço do estágio de maturação está relacionado com a redução de sua digestibilidade. Entretanto, de acordo com Johnson et al. (1999), em silagens de milho, o aumento na proporção de grãos à medida em que a planta amadurece torna obscura a relação entre maturidade e a digestibilidade. Isto por que, na silagem de milho, o amido é a maior fonte de energia, contribuindo com 50 a 70% da digestibilidade da matéria orgânica (Martin et al., 2008). Desta forma, a redução da digestibilidade das frações fibrosas muitas vezes é compensada pelo aumento das frações de alta digestibilidade, como por exemplo: o amido.

## **5. Metabolismo de energia em ruminantes**

Na produção animal, a energia luminosa fixada pela planta – pastagem ou grãos consumidos pelos animais - é liberada por meio da oxidação fisiológica realizada pelo organismo do animal. Parte desta energia será utilizada pelo organismo animal para a manutenção da vida, como realizar trabalho, conduzir impulsos nervosos, bem como para produzir carne, lã e leite. Todavia, outra parte será perdida pelo organismo do animal em cada etapa do processo de consumo e digestão dos alimentos na forma de calor.

Em nutrição animal, a energia contida nos alimentos, nas fezes, na urina e nos tecidos é mensurada através da completa combustão da amostra em uma bomba calorimétrica.

Durante a combustão, a água que circunda a câmara sofre um aumento de temperatura o qual é quantificado e convertido na unidade denominada de caloria. A caloria foi padronizada para 4,18 joules e é igual ao calor necessário para elevar a temperatura de 1 grama de água de 16,5 °C para 17,5 °C (NRC, 2007).

Na prática, a caloria representa uma pequena quantidade de energia, sendo que os termos quilocaloria (1 *Kal* = 1000 calorias) e Megacaloria (1 *Mcal* = 1000 kcal) são mais convenientes com os padrões utilizados na alimentação animal (NRC, 2007).

### **5.1. Partição de energia na alimentação animal**

Nos estudos de nutrição, a partição de energia consiste em avaliar a quantidade de energia contida em um alimento ou dieta e quantificar as perdas durante os processos fisiológicos no animal (Silva, 2016).

A avaliação energética dos alimentos é frequentemente expressa em termos de energia digestível (ED), nutrientes digestíveis totais (NDT) ou energia metabolizável (EM). Contudo, apesar de ser mais trabalhosa, é importante também determinar a energia líquida (EL) contida nos alimentos.

Entretanto, na determinação de todas estas formas de energia, o ponto de partida é a determinação da energia bruta (EB) contida nos alimentos.

#### **5.1.1. Energia bruta**

A EB constitui a energia química presente nos alimentos. Esta é obtida em laboratório por meio de um equipamento que realiza a combustão completa do alimento a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O.

O calor de combustão dos principais nutrientes varia segundo a sua composição e, mais especificamente, de acordo com a relação entre o oxigênio e os outros elementos, sendo que os valores médios encontrados são os seguintes: 4,15 kcal/g para os carboidratos, 5,65 kcal/g para as proteínas e 9,40 kcal/g para as gorduras (Andrighetto et al., 1982).

Os alimentos, de uma maneira geral, são constituídos principalmente por carboidratos e proteínas, estando seus valores de EB próximos a 4,4 kcal/g de matéria seca (Rezende et al., 2011).

#### **5.1.2. Energia digestível aparente**

A energia digestível aparente é a diferença entre a EB consumida e a energia excretada nas fezes. O termo “aparente” é utilizado uma vez que a matéria fecal não é constituída

unicamente de material indigestível, sendo contida também por células de descamação da parede do trato digestivo e resíduo das secreções oriundas do organismo animal.

A composição da dieta influencia diretamente na quantidade de energia que é perdida nas fezes pelo animal. Perdas fecais pequenas estão associadas com altas concentrações de carboidratos não fibrosos, como os açúcares, o amido e as frutanas, enquanto que maiores perdas fecais estão associadas com a presença de grandes quantidades de carboidratos fibrosos (como celulose e hemiceluloses) e ligninas (Van Soest, 1994).

No alimento, principalmente em forragens, os polissacarídeos celulose e hemiceluloses, juntamente com a lignina, formam uma rede composta por várias ligações químicas. A complexidade destas ligações afeta diretamente a digestão das hemiceluloses e da celulose pelos microrganismos ruminais. Diante disso, dentro de um mesmo alimento, a estrutura organizacional dos seus componentes irá influenciar diretamente a sua digestão e, conseqüentemente, a quantidade de energia disponibilizada para o organismo animal.

Na literatura alguns estudos relacionam os valores de ED com os nutrientes digestíveis totais (NDT). De acordo com o NRC (2016), 1 kg de NDT equivale a 4,4 Mcal de ED, contudo, Silva et al. (2016) ressaltam que é preciso ter cuidado com este valor, pois a ED sofre grande influência do nível de ingestão proporcionado ao animal.

### **5.1.3. Energia metabolizável**

A energia metabolizável (EM) é obtida ao subtrair da ED a energia perdida na forma de gases (CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>) pelo processo de fermentação ruminal e pela energia perdida em compostos excretados na urina. O CH<sub>4</sub> pode representar 8% da energia do alimento para animais em manutenção e 6% para animais em produção (Resende et al., 2011). Já a energia perdida na urina é representada pelos compostos absorvidos e não aproveitados e pelos compostos de origem endógena que são eliminados pelo organismo animal.

A relação entre a EM e a ED é denominada de metabolizabilidade (Rezende et al., 2011). De acordo com este mesmo autor, o aumento nos conteúdos de fibra reduz a metabolizabilidade do alimento em questão.

Embora reconhecendo a existência de variações na relação EM/ED dos alimentos, em função de diferenças nos níveis de consumo e nas taxas de passagem e de degradação do alimento, na prática, os padrões alimentares têm estimado a EM a partir da ED utilizando-se coeficientes fixos (Fontes et al., 2005). De acordo com o NRC (2007), a EM tem sido calculada como 82% da ED. Contudo, é importante ressaltar que a eficiência de utilização

da EM da dieta não está muito bem estabelecida para ruminantes (Ferreira et al., 1998). Neste sentido, Rezende et al. (2011) ressaltam que a relação entre EM/ED tem de ser vista com cuidado, uma vez que, os estudos no Brasil têm demonstrado diferenças, com valores de 81% para bovinos, 86% para caprinos e 73% para ovinos.

Borges et al. (2016), realizaram análises das relações entre ED e EM determinadas a partir de ensaios de metabolismo em câmaras respirométricas e constataram que a relação EM/ED foi sempre superior a 0,82 e que os dados apresentados demonstraram alta dependência da variável CEM em função do CED.

#### **5.1.4. Energia líquida**

A partir da EM, se for medida a quantidade de calor oriundo do metabolismo animal e do processo digestivo (Incremento calórico – IC), chegamos à energia líquida (EL). Esta é definida como a energia que é de fato utilizada para manutenção e formação de produtos, como leite, lã, gestação e ganho de peso.

O IC do alimento pode ser determinado pela diferença entre a produção de calor do animal alimentado em relação à produção de calor do mesmo animal em jejum por meio da calorimetria indireta. Para esta determinação utiliza-se a seguinte equação:

$$IC = Hal - H_{jj}$$

Em que:

IC = incremento calórico;

Hal = Produção de calor pelo animal alimentado;

H<sub>jj</sub> = produção de calor pelo animal em jejum.

Na determinação do IC, o animal está em jejum, em estado pós absorptivo, em repouso e em condições temoneutras. Este estado metabólico é definido como metabolismo basal. Neste estado, o animal usa a energia para manter atividade celular vital, ou seja, respiração e circulação. Uma referência comum do metabolismo em jejum é quando o quociente respiratório (qr) reflete o catabolismo da gordura (0,7) (Andriguetto et al., 1982), sendo que, experimentalmente, isso requer do animal ruminantes um jejum de 48 horas.

O metabolismo basal pode ser influenciado pelo sexo, pela idade e pela atividade desenvolvida pelo animal.

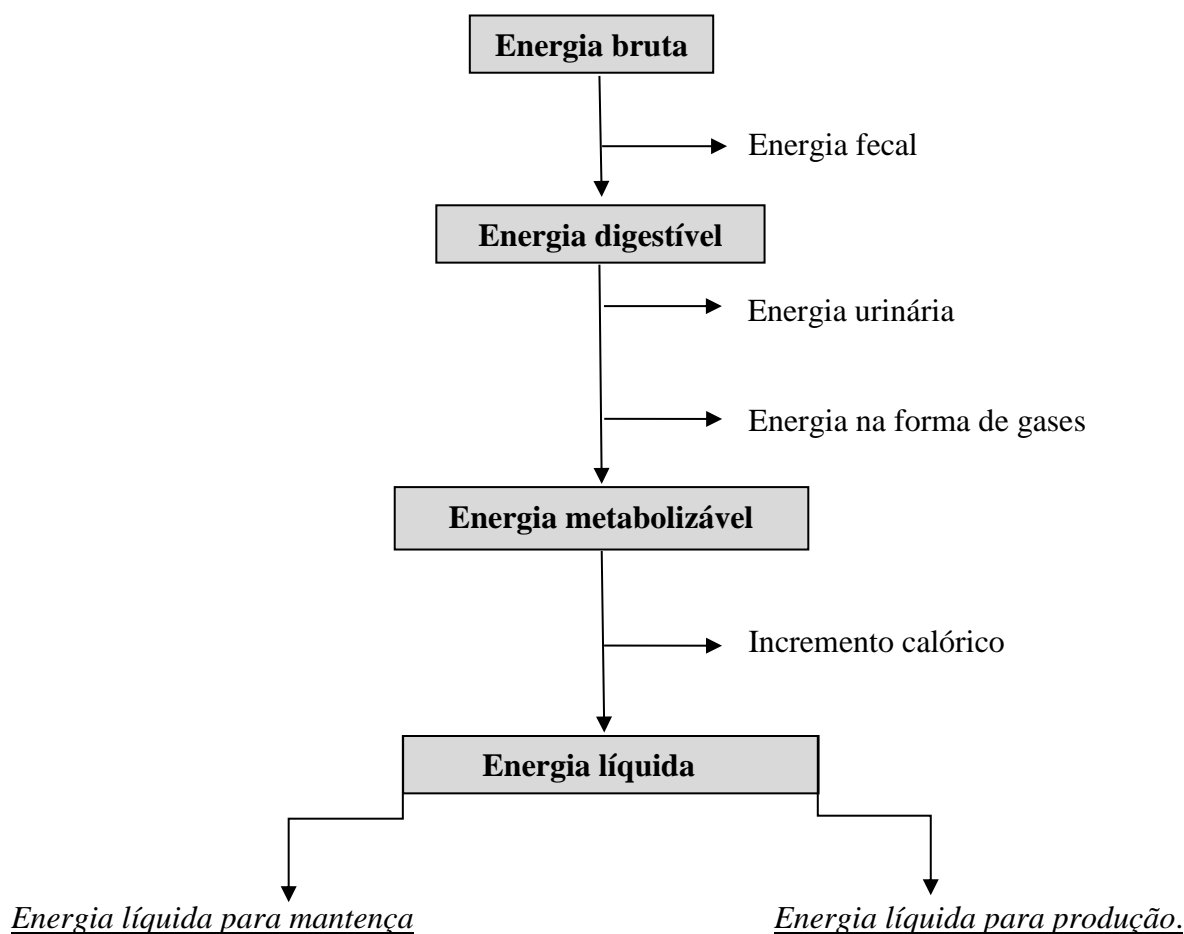


Figura 1: partição de energia

Adaptado do NRC, (2007).

Seguindo-se ao metabolismo basal, a necessidade energética imediatamente superior corresponde ao estado de manutenção, ou manutenção, e que se refere a um indivíduo adulto no qual não se exige um gasto excessivo com a termorregulação, nem um gasto ligado à alimentação anormal, bem como sem apresentar produção.

De acordo com o NRC (2007), para ovinos em manutenção o consumo de MS deve estar entre 60,0 a 80,0 g/kg de unidade de peso metabólico.

A partir da determinação do metabolismo basal e da determinação da produção de calor pelo animal alimentado em nível de manutenção, por meio da diferença entre estas duas variáveis, obtém-se o IC do alimento.

### 5.1. Técnicas de estudo de metabolismo

A produção de calor é a energia perdida pelo organismo do animal em outras formas diferentes daquelas da oxidação dos compostos orgânicos, podendo ser mensurada por calorimetria direta e indireta, ou ainda pela utilização de outros métodos indiretos, tais como o método de abates comparativos (Rezende et al., 2011).

### **5.1.1. Calorimetria direta**

Na calorimetria direta, o calor desprendido pelo organismo animal é medido pelo aumento da temperatura de um volume conhecido de água ou por meio de corrente elétrica (Posada et al., 2011). Para isso, verifica-se a temperatura da água que entra e sai na câmara em que o animal está, bem como o volume da mesma (Andreguetto et al., 1982).

### **5.1.2. Calorimetria indireta**

A denominação indireta indica que a produção de energia, diferentemente da calorimetria direta que mede a transferência de calor do organismo para o meio ambiente, é calculada a partir dos equivalentes calóricos do oxigênio (O<sub>2</sub>) consumido e do gás carbônico (CO<sub>2</sub>) (Diener, 1997) e CH<sub>4</sub> produzidos. Por meio dos valores de CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> e do consumo de O<sub>2</sub> pelos animais, é possível calcular a produção de calor gerada na fermentação/digestão dos alimentos. Contudo, além deste balanço é importante considerar a oxidação da proteína, pois esta pode ser oxidada a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, mas também pode liberar compostos nitrogenados via urina.

Utilizando os valores de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N urinário, e por meio da equação proposta por Brouwer (1965) ( $H \text{ (Kj)} = 16,18 \times O_2 \text{ (l)} + 5,02 \times CO_2 \text{ (l)} - 5,88 \times N_u \text{ (g)} - 2,17 \times CH_4 \text{ (l)}$ ), em que: H = produção de calor, N<sub>u</sub> = nitrogênio urinário) é calculada a perda de calor pelo organismo animal.

## **6. Degradabilidade *in situ***

Alimentos com alta taxa de degradabilidade da FDN são correlacionados positivamente com a ingestão. Todavia, alimentos com os mesmos teores de FDN podem apresentar diferentes ingestões, as quais podem estar relacionadas à porção da FDN indigestível.

As interações dentro do rúmen são difíceis de serem simuladas. Portanto, a técnica de degradabilidade *in situ*, por meio da utilização de sacos de náilon preenchidos com os

alimentos e suspensos no ambiente ruminal, se torna uma importante ferramenta, uma vez que ela permite o estudo da digestão, bem como da degradabilidade do alimento.

A técnica de degradabilidade *in situ* tem sido cada vez mais utilizada na avaliação de alimentos utilizados pelos ruminantes, devido a sua facilidade, rapidez de execução e, principalmente, devido a sua alta correlação com os resultados obtidos em experimentos *in vivo* (Molina et al., 2003).

De acordo com Getachew et al. (1998), a técnica de degradabilidade *in situ* fornece um meio útil para estimar as taxas de desaparecimento e da degradabilidade potencial dos alimentos e seus constituintes.

A suspensão das amostras de alimento no ambiente ruminal permite contato íntimo do alimento com o ambiente ruminal, sendo excelente maneira de simular o ambiente ruminal - temperatura, pH, substrato tampão, enzimas (Nocek et al., 1988). Contudo, Ørskov et al., (1980) e Nocek et al. (1988), ressaltam que embora o alimento esteja no ambiente ruminal, ele não está sujeito à mastigação, a ruminação e a passagem pelo rumem. Além do mais, a medição é feita com base na quebra do material para um tamanho pequeno o suficiente para deixar os sacos de incubação e não, necessariamente, com base na degradação completa em seus componentes simples (Ørskov et al., 1980). Embora tenha estas limitações, a técnica de degradabilidade *in situ* apresenta várias aplicações e vantagens. De acordo com Lana et al. (2005), a técnica *in situ* apresenta as seguintes aplicações e vantagens: determina o efeito da adição de grãos e concentrados sobre a ação celulolítica no rumem; determina o efeito dos nutrientes (minerais e gorduras, etc.) sobre a digestibilidade da celulose no rumem; determina o efeito dos níveis de amônia no rumem sobre a atuação de microrganismos; estima o valor nutritivo dos alimentos; determina a degradação, a taxa de digestão, a taxa de passagem e a taxa de consumo, além de apresentar baixo custo e rapidez na estimativa do valor nutritivo dos alimentos. Na avaliação de forrageiras, Ørskov et al. (1980) ressaltam que a técnica de degradabilidade *in situ* pode ser utilizada para se obter informações relativas a degradabilidade de diferentes forragens, da variação entre as espécies e as variedades, das diferenças entre as partes da planta e sobre o efeito da maturidade da planta em relação a sua degradabilidade.

### **6.1. Variações da técnica de degradabilidade *in situ***

Apesar de apresentar uma série de vantagens, a técnica de degradabilidade *in situ* ainda é pouco padronizada, podendo apresentar baixa repetibilidade (Michlet–Doreau et al., 1992).

Os principais fatores que fazem com que a técnica de degradabilidade *in situ* apresente variações são as características dos animais, as características dos substratos, o tamanho das partículas, as características dos sacos de náilon, o tamanho das amostras (Vanzant et al., 1998), as quantidades de amostra em relação a superfície da bolsa de náilon, a dieta e a contaminação bacteriana do material estudado.

#### **6.1.1. Características dos animais**

A técnica *in situ* tem sido empregada em animais como equinos, ovinos, caprinos, novilhos e vacas.

Campos et al. (2006), verificaram que os ovinos apresentaram maiores taxas de degradação da FDN, sendo as diferenças entre as espécies atribuídas as características específicas do ambiente ruminal.

As diferenças entre os resultados podem ser verificadas entre as diferentes espécies de animais e, dentro da mesma espécie, também pode ser observado variações potenciais relacionadas ao sexo e ao estado fisiológico do animal (Nocek, 1988).

#### **6.1.2. Características dos substratos**

A característica do substrato está relacionada ao poder de agregação das partículas. Desta forma, os agregados de partículas podem aumentar a superfície de contato do alimento e interagir com os poros dos sacos de náilon incubados, dificultando assim, o acesso dos microrganismos ao material incubado (Vanzant et al., 1998).

#### **6.1.3. Tamanho de partículas**

Durante o processamento das amostras, o tamanho da moagem utilizada pode fazer com que as partículas interajam com os poros dos sacos incubados e, desta forma, comprometa o desaparecimento dos constituintes incubados (Vanzant et al., 1998).

Partículas mais longas e mais grossas são associadas com taxas mais lentas de digestão e com maior variação nos resultados, enquanto os materiais finamente moídos estão sujeitos a maiores perdas pelos poros dos sacos de náilon, resultando em rápidas taxas de digestão (Nocek et al., 1998). Além disso, a moagem do material em partículas muito pequenas pode resultar em um aumento da superfície de contato para o ataque microbiano (Nocek et al., 1998), superestimando assim, a degradabilidade do alimento. De acordo com Campos et al.

(2006), as partículas menores influenciam principalmente a digestão da fração fibrosa, uma vez que esta é uma fração dependente do processo de colonização bacteriana.

Para a moagem dos materiais, as recomendações têm apresentado algumas variações, com o tamanho de peneira de 1,5 a 3,0 mm para concentrados e de 1,5 a 5,0 mm para forrageiras (Vanzant et al., 1998).

#### **6.1.4. Características dos sacos de náilon**

Os poros adequados para a análise *in situ* devem permitir um influxo suficiente de agentes digestivos, um efluxo adequado de produtos finais da digestão e, também, minimizar o influxo de resíduos da digesta ruminal e o efluxo de partículas da amostra (Vanzant et al., 1998).

Em situações em que o tamanho dos poros é muito pequeno, Vanzant et al. (1998), ressalta que pode haver seleção de microrganismos por meio da barreira física e da retenção dos produtos finais da degradação. Por outro lado, este mesmo autor relata que quando os poros são maiores pode haver escape de material particulado que não foi degradado. Diante destas variações, Nocek et al. (1988) recomenda que a porosidade deve ser de 40 a 60  $\mu\text{m}$ .

#### **6.1.5. Quantidade de amostra em relação superfície dos sacos de náilon.**

Alguns estudos têm demonstrado que o aumento da quantidade de amostra por superfície dos sacos de náilon tem sido relacionado com a redução da digestibilidade da amostra. Essas variações são provavelmente devido à circulação restrita dos agentes responsáveis pela degradação ruminal: bactérias e protozoários (Michlet–Doreau et al. (1992).

Nocek et al. (1998), ressalta que o tamanho ideal da amostra deve fornecer resíduo suficiente ao final da incubação, retardar a fixação bacteriana, aumentar o tempo de latência e fornecer um parâmetro apropriado para as comparações laboratoriais.

A quantidade de amostra por área deve ser de 10 a 20  $\text{mg}/\text{cm}^2$  (Nocek et al., 1998). Entretanto, em situações em que uma grande quantidade de resíduos é necessária para a análise do material, o tamanho dos sacos de náilon ou a quantidade de sacos de náilon pode ser aumentada visando atender a demanda de material (Vanzant et al., 1998) e respeitando a quantidade de amostra por área.

### 6.1.6. Dieta

A dieta é o principal fator determinante da quantidade e dos tipos de microrganismos ruminais e, conseqüentemente, da taxa e extensão da digestão dos nutrientes dietéticos (Nocek et al., 1998).

Considerando a grande variedade de alimentos que podem ser avaliados *in situ*, os objetivos devem ser maximizar a diversidade da população microbiana para garantir que os nutrientes individuais não limitem a digestão ruminal (Vanzant et al., 1998). Neste sentido, Tomich et al. (2004), acrescenta que a alimentação dos animais ao longo do experimento deve ser a mesma e deve fornecer um mínimo de condições para o crescimento dos microrganismos ruminais.

### 6.1.7. Contaminação bacteriana

Uma das maiores dificuldades com as avaliações *in situ* é medir a contaminação microbiana em resíduos incubados (Vanzant et al., 1998). Uma maneira alternativa de levar em conta a contaminação microbiana é o uso de marcadores (Krawielitzki et al., 2006). Por outro lado, Doreau et al. (1992) tem recomendado a lavagem manual dos sacos após a incubação até a água de lavagem ficar límpida. Tal procedimento tem como finalidade remover os restos de digesta e reduzir a contaminação de microrganismos presente nos sacos de náilon.

## 6.2. Modelos de determinação da degradabilidade *in situ*

Na aplicação da técnica de degradabilidade *in situ*, após a obtenção dos valores dos componentes nutricionais que desapareceram no ambiente ruminal, estes valores são inseridos em modelos matemáticos, como o proposto por Ørskov e McDonald (1979).

$$Dp = a + b * [1 - \exp^{-ct}]$$

*Em que:*

- Dp = percentagem de degradação após um tempo (t) de incubação;
- a = representa a fração rapidamente degradada do substrato;
- b = degradabilidade potencial do material que permaneceu no saco de incubação após o tempo zero

- c = taxa constante de degradação da fração b (%/hora);
- t = tempo de incubação em horas.

Além do modelo proposto por Ørskov e McDonald (1979), outro que também tem sido utilizado é o modelo de Sampaio et al. (1988). Este modelo é uma simplificação do modelo Ørskov e McDonald (1979), de acordo com a formula abaixo:

$$D_p = a + b \cdot e^{-ct}$$

*Em que:*

- $D_p$  = percentagem de degradação após um tempo (t) de incubação;
- a = percentagem máxima de degradação do material incubado em um tempo t. Esta variável corresponde a + b do modelo proposto por Ørskov e McDonald (1979).
- b = degradabilidade potencial do material incubado a partir do momento da incubação;
- c = taxa constante de degradação (%/hora);
- t = tempo de incubação em horas.

## **7. Técnica semiautomática de produção de gases**

A técnica semiautomática de produção de gases *in vitro* tem se destacado ao longo dos anos por permitir avaliar um grande número de substratos por experimento, apresentando alta acurácia nas medições, simplicidade no manuseio dos equipamentos e baixo custo na implantação e por amostra analisada (Maurício et al., 2003). Além da mensuração do gás metano (CH<sub>4</sub>), a técnica semiautomática de produção de gases é utilizada para determinar a importância das frações dos alimentos, uma vez que, ela mede tanto os parâmetros cinéticos da digestão como a digestibilidade da forragem.

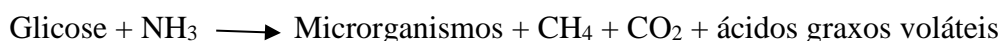
A produção de gases reflete a fermentação do substrato e a degradabilidade da matéria orgânica (DMO) reflete o substrato fermentado e incorporado pelos microrganismos ruminais (Maurício et al., 2001).

## 7.1. Origem dos gases

Na fermentação ruminal, os carboidratos são os principais responsáveis pela produção de gases, sendo que a fermentação das proteínas é praticamente insignificante (Getachew et al., 1998). Já a contribuição dos lipídios para a produção de gases é insignificante.

Os principais produtos da fermentação ruminal são os ácidos graxos voláteis (AGVs) de cadeia curta, como o acetato (C2), o propionato (C3) e o butirato (C4), e os gases, como o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e o CH<sub>4</sub> (Bergmam, 1990).

De acordo com Van Soest (1994), a fermentação ruminal se processa da seguinte forma:



A fermentação em ruminantes envolve um processo oxidativo, gerador de cofatores reduzidos (NADH, NADPH e FADH). Contudo, para que o processo fermentativo não seja paralisado, esses cofatores são então reoxidados (NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup> e FAD<sup>+</sup>) por meio de reações de desidrogenação, liberando H<sub>2</sub> no rúmen (Moss et al., 2000).

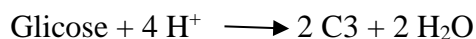
O H<sub>2</sub> produzido durante a fermentação microbiana do alimento é usado como fonte de energia pelas *Archaea* metanogênicas, que produzem CH<sub>4</sub> (Moss et al., 2000). A formação do gás CH<sub>4</sub> funciona como um processo canalizador de H<sub>2</sub>, onde o CO<sub>2</sub> reage com 4H<sub>2</sub>, formando CH<sub>4</sub> e 2H<sub>2</sub>O. Por isso, a formação do CH<sub>4</sub> reduz os níveis de H<sub>2</sub> no ambiente ruminal, promovendo, desta forma, um ambiente favorável ao crescimento de outras espécies de bactérias

O processo de formação do CH<sub>4</sub> ocorre da seguinte forma:



Entretanto, o processo de formação do CH<sub>4</sub> e sua relação com a produção de cada um dos ácidos graxos voláteis merece atenção: Isto por que, a produção de C2 e C4 libera H<sub>2</sub>, enquanto a produção de C3 serve como meio de consumir o H<sub>2</sub> líquido (Beuchemim et al., 2009) presente no ambiente ruminal. Estas reações se processam de acordo com o esquema apresentado abaixo:





De acordo com as equações acima é possível verificar que a produção de H<sub>2</sub> ruminal é aumentada com a produção de C2 e C4, enquanto a produção de C3 age de forma contrária, ou seja, consumindo o H<sub>2</sub>. Diante disso, Moss et al. (2000) sugeriu a seguinte equação para estimar a produção de CH<sub>4</sub>:

$$\text{CH}_4 = 0,45 \times \text{C2} - 0,275 \times \text{C3} + 0,40 \times \text{C4}$$

Muitos fatores influenciam a produção de CH<sub>4</sub> entérico pelos ruminantes, inclusive o tipo de carboidrato fermentado, o sistema digestivo do animal, a quantidade e o tipo de alimento consumido. Portanto, nos estudos envolvendo os alimentos na nutrição animal, a sua fermentação e os produtos da sua fermentação, bem como a sua relação com a composição química e o tipo de animal devem ser avaliados.

## **7.2. Cinética de fermentação e descrição matemática da produção de gases *in vitro***

A técnica semiautomática de produção de gases considera a conversão de todas as principais fontes de carboidratos como os monossacarídeos, os polissacarídeos, as pectinas, o amido, a celulose e a hemicelulose, em CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> e, também, a reação dos AGVs com o tampão bicarbonato (Mizubuti et al., 2014).

Na aplicação da técnica, as amostras dos alimentos, juntamente com o meio de cultura e o inóculo ruminal são incubados em frascos de vidro a 39 °C. Após este processo, em horários pré-determinados, são realizadas leituras da pressão gerada pelos gases no interior dos frascos de incubação por meio de um transdutor digital. Os dados de pressão mensurados são utilizados para o cálculo do volume de gases produzidos.

A descrição matemática das curvas de produção de gases permite a análise dos dados, a comparação dos substratos e a avaliação de diferentes ambientes de fermentação, fornecendo informações valiosas sobre a composição do substrato e as taxas de fermentação dos constituintes solúveis e estruturais do substrato (Nogueira et al., 2004).

Um dos modelos matemáticos utilizados para a descrição da cinética de produção de gases é o modelo matemático bicompartimental proposto por Pell e Schofield et al. (1993). Este modelo divide a produção total de gases em dois compartimentos distinguidos pelas suas taxas de digestão, que são a rápida (carboidratos não fibrosos – CNF) e a lenta (Carboidratos fibrosos – CF).

$$V(t) = Vf_1: (1 + \exp(2-4 * C_1(T-L))) + Vf_2: (1 + \exp(2-4 * C_2(T-L)))$$

*Em que:*

- $Vf_1$  = volume máximo de produção de gases pela fração carboidratos não fibrosos,
- $C_1$  = taxa de digestão para a fração de carboidratos não fibrosos,
- $L$  latência ou tempo de colonização,
- $Vf_2$  = Volume máximo de produção de gases a partir da fração de carboidratos fibrosos
- $C_2$  = Taxa de digestão para a fração de carboidratos fibrosos,
- $T$  = tempo de fermentação.

Existem vários modelos matemáticos propostos para a determinação da cinética de produção de gases. Diante disso, é necessário avaliar os diferentes modelos sob diferentes condições experimentais e com uma ampla variedade de substratos, o que permitirá escolher o melhor modelo para cada situação e não o uso indiscriminado de um único modelo para todos os tipos de substratos e para as mais variadas condições experimentais (Nogueira et al., 2004).

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALLEN, M.S. Effects of Diet on Short-Term Regulation of Feed Intake by Lactating Dairy Cattle. *Journal Dairy Science*, v.83, p.1598–1624, 2000.

ANDRIGUETTO, A. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. A.; FILHO, A. B. As Bases e os Fundamentos da Nutrição Animal. Os Alimentos. Nutrição animal, v.1, 1982, 395p.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HEN. Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, v.28, p.261-263, 2002.

BASTOS, M. P. V.; CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, R. R., FILHO, A. E.; SANTOS, E. J.; CHAGAS, D. M. T.; BARROSO, D. S.; FILHO, J. A. Ingestive behavior and nitrogen balance of confined santa inês lambs fed diets containing soybean hulls. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, v.27, n.1, p.24-29, 2014.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCALLISTER, T. A.; MCGINN, S. M. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, v.4, No. 035, 2009.

BERNARDES, T. F.; NUSSIO, L. G.; AMARAL, R. C. Top spoilage losses in maize silage sealed with plastic films with different permeabilities to oxygen. Grass and Forage Science, v.67, p.34-42, 2011.

BERNARDES, T. F.; RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. Journal of Dairy Science, v.97, n.3, p.1852-1861, 2014.

BORGES, A.L.C.C.; SILVA, R.R.; FERREIRA, A.L.; LAGE, H.F.; VIVENZA, P.A.D.; CARVALHO, P.H.A.; FONSECA, M.P.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. Respirimetria e exigências nutricionais de zebuínos e cruzados de leite, em diferentes níveis de alimentação e estádios fisiológicos. BR - Corte: tabela brasileira de exigências nutricionais/2016. Editores Sebastião de Campos Valadares Filho ... et al. - 3. ed. - Viçosa (MG) : UFV, DZO, 2016.

BORREANI, G.; BERNARDES, T. F.; TABACCO, E. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm

in high quality milk and cheese production chains. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, *suplemento especial*, p.68-77, 2008.

BROUWER, M. Report of sub-committee on constants and factors. In: SYMPOSIUM OF ENERGY METABOLISM HELD AT EUROPEAN ASSOCIATION FOR ANIMAL PRODUCTION, 1965, London. Proceedings... London: EAAP Academic, 1965. p. 441-443.

BÜRGER, P. J.; PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; SILVA, J. F. C.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; CASALI, A. D. P. Comportamento Ingestivo em Bezerros Holandeses Alimentados com Dietas Contendo Diferentes Níveis de Concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29(1), p.236-242, 2000.

BUXTON, D. R.; DAREN D. R. Plant limitations to fiber digestion and utilization. *The Journal of Nutrition*, v.127, p.814-818, 1997.

CAMPOS, P. R. S. S.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; DETMANN, E. D.; LEÃO, M. I., SOUZA, S. M.; LUCCHI, B. B.; VALADARES, R. F. D. Estudo comparativo da cinética de degradação ruminal de forragens tropicais em bovinos e ovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.6, p.1181-1191, 2006.

CASTRO, F. G. F.; NUSSIO, L. G.; HADDAD, C.M.; CAMPOS, F. P.; COELHO, R. M.; MARI, L. J.; TOLEDO, P. A. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon sp.*) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.2, p.358-371, 2006.

CAVALLARIN, L.; TABACCO, E.; ANTONIAZZI, S.; BORREANI, G. Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as a result of aerobic exposure. *Journal Science Food Agriculture*, v.91, p.2419–2425, 2011.

CHARMLEY, E. Towards improved silage quality – A review. *Canadian Journal Animal Science*, v.81, p.157–168, 2001.

CHEN, Y.; WEINBERG, Z, G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *Journal of Dairy Science*, v.97, n.1, p.406-410, 2014.

CHURCH, D. C. *The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition*. Prentice Hall, 564p, 1995.

COELHO DA SILVA, J. F. *Nutrição de ruminantes: Mecanismos reguladores de consumo*. Jaboticabal, SP: 2006. Funep, p.57-78.

COMBS, D. K. TTNDFD: A new approach to evaluate forages. *Cornell Nutrition Conf. Dept. Anim. Sci., Univ. Cornell, Ithaca, NY*, 2013.

DIENER, J. R.C. Calorimetria indireta. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.43, n.3, p.245-253, 1997.

DULPHY, J. P.; OS, M.V. Control of voluntary intake of precision-chopped silages by ruminants: a review. *Reproduction Nutrition Development*, v.36, n.2, p.113-135, 1996.

DRIEHUIS, F.; WIKSELAAR, P. G. V. The occurrence and prevention of ethanol fermentation in high-dry-matter grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.80, p.711-718, 2000.

ERICKSON, P. S.; WHITEHOUSE, N. L.; SPANGLER, D. A. CASE STUDY: Adding a bacterial inoculant to corn silage removed from a bunker silo and stored in piles. *The Professional Animal Scientist*, v.28, p.244–247, 2012.

FERREIRA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; VALADARES, R. F. D.; PAULINO, M. F., CECON, P. R.; MUNIZ, E. B. Eficiência de Utilização da Energia Metabolizável para Ganho de Peso e Exigências de Energia Metabolizável e Nutrientes Digestíveis Totais de Bovinos F1 Simental x Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.28, n.2, p.368-373, 1998.

FONTES, C. A. A.; OLIVEIRA, R. C.; ERBESDOBLER, E. D.; QUEIROZ, D. S.; LOMBARDI, C.T. Conteúdo de Energia Líquida para Manutenção e Ganho do Capim-Elefante e Mudanças na Composição Corporal de Novilhos em Pastejo, Durante a Estação Chuvosa. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, n.5, p.1711-1720, 2012.

GERLACH, K.; ROß, F., WEIß, K.; BÜSCHER, W.; SÜDEKUM, K. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. Agriculture Food Science, v.22, p.168-181, 2013.

GERLACH, K.; LIAO, Y.; SÜDEKUM, K. H. Aerobic exposure of lucerne silages and its impact on preference and dry matter intake by goats. Small Ruminant Research, v.121, p. 308-313, 2014.

GETACHEW, G.; BLUMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology, v.72, p. 261–281, 1998.

HOLMES, B. J.; MUCK, R. E. Packing Bunkers and Piles to Maximize Forage Preservation. 2007.

HUHTANEN, A. P.; KHALILIA, H.; NOUSIAINEN, J. L.; RINNE, M.; JAAKKOLAA, S.; HEIKKILA, T.; NOUSIAINEN, J. Prediction of the relative intake potential of grass silage by dairy cows. Livestock Production Science, v.73, p.111-130, 2002.

JOHNSON, L.; HARRISON, J. H.; HUNT, C.; SHINNERS, K.; DOGGETT, C. J.; SAPIENZA, D. Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: a contemporary review. Journal of Dairy Science, v.82, p.2813-2825, 1999.

LANA, L. P. NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO (mitos e realidades). 2005. Viçosa: UFV, 334p.

LIMA, E. M.; GONÇALVES, L. C.; KELLER, K.M.; RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. P. C.; MICHEL, P. H. F.; RAPOSO, V. S.; JAYME, D.G. Re-ensiling and its effects on

chemical composition, *in vitro* digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure to air. Canadian Journal of Animal Science, v.97(2), p.250-257, 2017.

KOC, F.; COSKUNTUNA, L.; OZDUVEN. M. L. The effects of temperature on the silage microbiology and aerobic stability of corn and vetch-grain silages. Acta Agricultura e Scand Section, v.59, p.239-246, 2009.

KRAWIELITZKI, K.; SCHMIDT, T. H.; VOIGT, J.; KOWALCZYK, J.; GABEL, M. Dynamics of microbial contamination of protein during ruminal in situ incubation of feedstuffs. Journal of animal and Feed Sciences, v.15, P. 313–328, 2006.

MARTIN, N. P.; MERTENS, D. R.; HALL, M. B.; LAUER, J. G. Fiber digestibility and starch content of corn silage. Idaho Alfalfa and Forage Conference, 2008.

MAURÍCIO, R. M.; RIBEIRO PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N. M.; MARTIINS, R. G. R.; RODRIGUES, J. A. S. Potencial da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases para avaliação de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Revista Brasileira de Zootecnia, v.32 n.4, 2003.

MAURICIO, R.M.; OWEN, E.; MOULD, F.L.; GIVENS, I.; THEODOROU, M.K.; FRANCE, J.; DAVIES, D.R.; DHANOA, M.S. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forages. Animal Feed Science and Technology, v.89, p.33-48, 2001.

McGEEGAN, M. B. A Review of Losses Arising During Conservation of Grass Forage: Part 2, Storage Losses. Journal agriculture Engineering Reserch, v.45, p.1-30, 1990.

MELLO, R.; NÖRNBERG, J. L.; QUEIROZ, A. C.; MIRANDA, E. N.; MAGALHÃES, A. R.; DAVID, D. B.; SARMENTO, L. R. Composição química, digestibilidade e cinética de degradação ruminal das silagens de híbridos de girassol em diferentes épocas de semeadura. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, p.1523-1534, 2006.

MENDONÇA, S.S.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; SOARES, C.S.; LANA, R.P.; QUEIROZ, A.C.; ASSIS, A.J.; PEREIRA, M.L.A. Comportamento Ingestivo de Vacas Leiteiras Alimentadas com Dietas à Base de Cana de Açúcar ou Silagem de Milho. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.3, p.723-728, 2004.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. Inc.. Forage Quality, Evaluation, and Utilization, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, p.450– 493, 1994.

MICHALET-DOREAU, B.; OULD-BAH, Y. *In vitro* and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Animal Feed Science and Technology*, v.40, p.57-86, 1992.

MICHEL, P. H. F.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; RAPOSO, V. S.; LIMA, E. M., SANTOS, F. P. C. AND JAYME, D. G. Re-ensiling and inoculants application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionicion* sorghum silages. *Grass Forage Science*, v.72, p.432–440, 2016.

MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E. L. A.; PEREIRA, E. S.; 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, Londrina*, v. 35, n. 1, p. 555-566, jan. /Fev, 2014.

MOLINA, L.R.; RODRIGUEZ, N. M.; SOUSA, B. M.; GONÇALVES, L. C.; BORGES, I. Parâmetros de Degradabilidade Potencial da Matéria Seca e da Proteína Bruta das Silagens de Seis Genótipos de Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), com e sem Tanino no Grão, avaliados pela Técnica *in Situ*. *Revista Brasileira Zootecnia*, v.32, n.1, p.222-228, 2003.

MOSS, A. R.; JOUANY, J.; NEWBOLDC, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Animal Zootecnia*, v. 49, p. 231–253, 2000.

NOCEK, J. E. *In Situ* and Other Methods to Estimate Ruminant Protein and Energy Digestibility: A Review. *Dairy Science*, v71, p.2051-2069, 1988.

NOGUEIRA, R. R.; SALIBA, E. O.; MAURICIO, R. M. Comparación de modelos matemáticos para estimar los parámetros de degradación obtenidos a través de la técnica de producción de gas. *Livestock Research for Rural Development*, v.16, n.11, 2004.

NRC - National Research Council. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and New World camelids, 1st ed. National Academy Science, Washington, DC, USA, 2007.

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; DIAS, F. N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. Inc. *Produção e Utilização de Forragens Conservadas*, Anais de Simpósio, Maringá, 2001.

OLIVEIRA, J. S.; SANTOS, E. M.; SANTOS, A. P. M. Intake and Digestibility of Silages. *Advances in Silage Production and Utilization. InTech*, 2016.

OLIVEIRA, I. L.; LIMA, L. M.; CASAGRANDE, D. R.; LARA, M. A. S.; BERNARDES, T.F. Nutritive value of corn silage from intensive dairy farms in Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.46(6), p.494-501, 2017.

OSHITA, T.; TAKAYAMA, H.; OTSUKA, H.; IGARASHI, H.; NONAKA, K.; KUME, S. Effects of Maturing Stage of Corn Hybrids on Silage Yield, Feeding Value for Dairy Cows and Milk Production in a Cold Region of Japan. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, v.20, n.4, p.511-516, 2007.

ØRSKOV, E. R., DEB HOVELL, F. D., MOULD, F. THE USE OF THE NYLON BAG TECHNIQUE FOR THE EVALUATION OF FEEDSTUFFS. *Tropical Animal Produção*, v.5, p.3, 1980.

ØRSKOV, E. R.; MCDONALD, J. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed in weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, v.92, p.499-503, 1979.

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

PIRES, D. A. A.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; JAYME, D. G.; GUIMARAES JUNIOR, R. B.; RODRIGUES, N. M.; BORGES, I.; BORGES, A. L. C. C.; JAYME, C. G.; BOTELHO, P. R. F.; LIMA, L.O.B. Degradabilidade *in situ* das frações fibrosas da silagem de sorgo. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.8, n.2, p.175-185, 2010.

PITT, R.E. Dry Matter Losses Due to Oxygen Infiltration in Silos. *Journal, Agriculture, Engineering Reserach*, v.35, p.193-205, 1986.

PITT, R. E.; MUCK, R. E. A Diffusion Modelo f Aerobic Deterioratio at the Exposed Face of Bunker Silos. *Journal agriculture Enegenering Research*, v.55, p.11-26, 1993.

POLLI, V.A.; RESTLE, J.; SENNA, D.B. Comportamento de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. *Ciência Rural*, v.25(1), p.127-131, 1995.

POSADA, S. L.; NOGUERA, R. R.; RODRÍGUEZ, N.M.; BORGES, A.L.; REIS, R. Exigencias energéticas para ganado de carne: conceptos y resultados experimentales en condiciones tropicales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, v.24, p.623-633, 2011.

RANJIT, N. K.; KUNG, JR. L. The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. *Journal of Dairy Science*, v.83, n.3, 2000.

RESENDE, K. T.; TEIXEIRA, I. A. M. A.; FERNANDES, M. H. M. R. Metabolismo de energia. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds), *Nutrição de Ruminantes*, 2.ed., Jaboticabal: FUNEP, p.323-344, 2011.

SAMPAIO, I.B.M.; PIKE, D.J.; OWEN, E. Optimal design for studying dry matter degradation in the rumen. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 47, p.373-383. 1995.

SANTINI, F. J.; LU, C. D.; POTCHOIBA, M. J. Dietary Fiber and Milk Yield, Mastication, Digestion, and Rate of Passage in Goats Fed Alfalfa Hay. *Journal of Dairy Science*, v.75, p.209-219, 1992.

SILVA, T.C.; SANTOS, E.M.; MACEDO, C.H.O.; LIMA, M.A.; AZEVEDO, J.A.G.; PINHO, R.M.A.; PERAZZO, A.F.; OLIVEIRA, J.S. Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de silagens de híbridos de sorgo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.6, p.1865-1873, 2014.

SILVA, J. S. Exigências de energia em bezerros lactentes f1 holandês x gir, utilizando a respirometria. 113p. *Tese (Doutorado em Zootecnia)* – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

STENSIG, T.; ROBINSON, P. H. Digestion and Passage Kinetics of Forage Fiber in Dairy Cows as Affected by Fiber-Free Concentrate in the Diet. *Journal Dairy Science*, v.80, p.1339–1352, 1997.

TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A.; BORREANI, G. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Dairy Science*, v.94, n.3, 2011.

TANGNI, E. K.; PUSSEMIER, L.; VAN HOVE, F. Mycotoxin Contaminating Maize and Grass Silages for Dairy Cattle Feeding: Current State and Challenges. *Journal of Animal Science Advances*, v.3, n.10, p.492-511, 2013.

TOMLINSON, D. J.; JAME, R. E.; MCGLLLLARD, M. L. Effect of Varying Levels of Neutral Detergent Fiber and Total Digestible Nutrients on Intake and Growth of Holstein Heifers. *Journal Dairy Science*, v.74, p.537-545, 1991.

TOMICH, T. R.; SAMPAIO, I. B. M. A new strategy for the determination of forage degradability with an in situ technique through the use of one fistulated ruminant. *Journal of Agricultural Science*, v., p.142, 589–593, 2004.

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

VANZANT, E. S.; COCHRAN, R. C.; TITGEMEYER, E. C. Standardization of In Situ Techniques for Ruminant Feedstuff Evaluation. *Journal Animal Science*, v.76, p.2717–2729, 1998.

VELHO, J. P.; MUHLBACH, P. R. F.; GENRO, T. C. M.; SANCHEZ, L. M. B.; NÖRNBERG, J. L.; ORQIS, M. G.; FALKENBERG, J. L. Alterações bromatológicas das silagens de milho submetidas a crescentes tempos exposição ao ar “desensilagem”. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.3, p.916-923, Mai/jun, 2006.

VILELA, H.H.; REZENDE, A.V.; VIEIRA, P.F.; ANDRADE, G.A.; EVANGELISTA, A.R.; ALMEIDA, G.B.S. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de Maturação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.7, p.1192-1199, 2009.

WICHIRTI, B.; KIENZLE, E.; BAUIK, J. Palatability and intake of silage in dairy cows, in relation to hygienic quality. *Journal Animal Physiology Animal Nutrition*, v.80, p.253-259, 1998.

## CAPÍTULO III

### **Cinética de fermentação ruminal e degradabilidade *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar**

#### **Resumo**

As perdas aeróbias em silagens reensiladas podem limitar a ação dos microrganismos ruminais à forragem, proporcionando redução na degradabilidade, fermentação e na digestibilidade do material. Diante disso, objetivou-determinar a cinética de fermentação ruminal *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar. As amostras (1 mm) foram pesadas em sacos Ankom® F-57 e incubadas no interior de frascos de fermentação por 96 horas. A degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO) foi calculada a partir da pesagem das amostras incubadas e dos seus resíduos após 96 horas de fermentação. No tempo de 12 horas de incubação foram coletas amostras para a determinação dos valores de pH e conteúdos de gás metano (CH<sub>4</sub>). Já a produção de gases foi medida por intermédio de um aparato de deslocamento de água. A DMS e DMO não foram influenciadas pelos diferentes tempos de reensilagem, com valores médios de 64,94% e 70,61%, respectivamente. Os valores de pH e produção de CH<sub>4</sub> também não foram influenciados pelos diferentes tempos de reensilagem. Não houve diferença (P>0,05) para a produção total de gases no tempo de 96 horas de incubação, com valor médio de 167,10 mL/g MS incubada. A exposição das silagens ao ar não influenciou os parâmetros de cinética de fermentação *in vitro* das silagens de milho reensiladas.

**Palavras-chave:** fermentação *in vitro*, metano, perdas aeróbias, reensilagem, técnica semiautomática.

#### **1. Introdução**

No Brasil, a comercialização de silagens entre propriedades tem se tornado uma prática muito frequente (Dos Anjos et al., 2018). As limitações territoriais de algumas propriedades e climáticas em algumas regiões, aliado a falta de planejamento forrageiro, têm sido uma das principais razões para a aquisição e a reensilagem dos materiais comercializados. Porém, apesar de ser uma solução para a escassez de volumoso, a exposição das silagens ao oxigênio durante a transferência pode comprometer o seu valor nutritivo.

Quando as silagens são expostas ao oxigênio, os microrganismos aeróbios (leveduras, fungos e bactérias) podem se tornar metabolicamente ativos e consumir os nutrientes solúveis e produzir calor (Ranjit e Kung, Jr, 2000; Borreani et al., 2008), em um processo denominado de deterioração aeróbia. Os principais substratos utilizados pelos microrganismos aeróbios são os ácidos orgânicos, o etanol e os açúcares solúveis, resultando em aumento do pH e redução na digestibilidade e no conteúdo de energia das silagens (Jobim et al., 2007) expostas ao ar. Portanto, é possível verificar que a ação dos microrganismos aeróbios resulta em grande prejuízo, não somente pela perda de matéria seca, mas, também, por comprometer a digestibilidade e os conteúdos de energia dos materiais expostos ao ar.

No que consiste na transferência de silagens, a literatura ainda é escassa e, com isso, muitos produtores rurais e técnicos utilizam a reensilagem sem conhecer os possíveis efeitos prejudiciais que tal processo pode resultar (Dos Anjos et al., 2018). Diante disso, a avaliação das silagens por meio da cinética de fermentação de gases *in vitro* pode contribuir para determinar se a reensilagem compromete a fermentação do material e o valor nutricional das forrageiras reensiladas. Além disso, Kara (2016), ressalta que por ser um volumoso muito utilizado na alimentação de bovinos de leite e de corte, é importante que se determine também as emissões de CH<sub>4</sub> nos animais alimentados com as silagens de milho. Desta forma, objetivou-se determinar a cinética de fermentação ruminal, a produção de CH<sub>4</sub> *in vitro* e a degradabilidade *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

## **2. Material e métodos**

Este estudo recebeu a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite, sob o número de protocolo 03/2014, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal.

### *2.1. Ensilagem e reensilagem*

O híbrido de milho BRS 1060 foi cultivado Embrapa Milho e Sorgo, localizada no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19° 28'S, longitude 44° 15'W e altitude de 732m). No plantio da lavoura foram utilizados 400 kg de 08-28-16 (N:P:K) + 5% de Zn e na adubação de cobertura, que ocorreu 30 dias após o plantio, utilizou-se 100 kg de nitrogênio/hectare. Após 107 dias de plantio, foram coletadas amostras de plantas inteiras para determinação das frações colmo, folhas e espigas. Já o restante das plantas de milho foi

colhido, triturado e ensilado em tambores de 200 litros revestidos com sacos plásticos. Foram confeccionados 80 silos (tambores) experimentais.

As plantas de milho utilizadas na confecção das silagens apresentaram um percentual de colmo, folhas e espigas de 31,93%, 16,06% e 52,01%, respectivamente.

Após 56 dias de ensilagem, os tambores foram conduzidos para um galpão coberto e com piso de cimento. Neste local, os 80 tambores foram divididos em 4 grupos, de 20 tambores cada. Após a divisão, um grupo contendo 20 tambores de silagem permaneceu fechado (controle). Já os demais grupos de tambores foram desensilados, formando uma pilha de silagem para cada grupo de 20 tambores (tratamento). Após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar, os materiais de cada uma das pilhas foram recolhidos e reensilados utilizando os mesmos procedimentos empregados na ensilagem. Após 56 dias de reensilagem, os tambores contendo silagens foram abertos e as silagens contidas em seu interior amostradas para a realização do ensaio de cinética de fermentação ruminal e degradabilidade *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

Este estudo foi realizado simulando a época do ano e o tempo médio de duração da transferência de silagens no Brasil.

Tabela 1. Temperaturas ambiente observadas durante a realização da reensilagem

Dias da reensilagem	Horas do dia			T °C	T °C	T °C
	12:00	16:00	24:00	Máxima.	Mínima.	Média.
10/07/2013	19,7	25,8	18,2	26,6	12,9	19,12
11/07/2013	18,9	22,0	15,1	24,8	11,2	17,02
12/07/2013	19,7	24,3	16,6	25,4	10,3	17,72

Os dados de temperatura foram obtidos na estação meteorológica da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

Foram realizadas amostragens na parte superior, central e inferior das silagens contidas em cada um dos tambores. As amostras, iguais em forma de amostragem e peso, de cada um dos tambores, foram utilizadas para a confecção de uma única amostra composta, obtendo-se ao final uma amostra por tratamento. Estas amostras foram secas em estufa a 55°C (AOAC, 1990), moídas em moinho (moinho Wiley; A. H. Thomas, Filadélfia, PA)

utilizando peneira de 1mm e armazenadas em frascos de polietileno até o procedimento de análise da cinética de fermentação ruminal e a degradabilidade *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

Tabela 2. Composição química das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempo de exposição ao ar (h)			
	0	12	24	48
Matéria seca (g/kg)	355,00	365,60	365,00	369,40
Cinzas (g/kg MS)	31,10	34,78	35,36	35,95
Extrato etéreo (g/kg MS)	42,50	39,20	40,10	38,00
Proteína bruta (g/kg MS)	79,40	81,30	79,20	79,50
Fibra insolúvel em detergente neutro <sup>a</sup> (g/kg MS)	389,30	410,10	420,40	429,00
Fibra insolúvel em detergente ácido <sup>a</sup> (g/kg MS)	221,10	235,90	247,70	240,70
Carboidratos não fibrosos (g/kg MS)	457,76	434,71	425,02	417,64
Lignina (g/kg MS)	9,40	12,3	9,20	11,8
Digestibilidade total da fibra insolúvel em detergente neutro (g/kg FDN)	283,70	251,80	291,50	267,60

<sup>a</sup>corrigida para cinzas e proteínas.

## 2.2. Análise da cinética de fermentação ruminal *in vitro* das silagens de milho reensiladas

Para a determinação da cinética de fermentação ruminal e da degradabilidade *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar foram utilizados três frascos (réplicas) por inóculo (bloco), por tempo de produção de gases (subparcela) e por tempo de reensilagem (parcela), incubados com líquido ruminal obtido de quatro vacas fistuladas no rúmen.

Na preparação do material a ser incubado, foram pesadas amostras de forragem (500 mg) em frascos de 50 mL, previamente gaseificados com CO<sub>2</sub>. Em cada frasco foi adicionado 25mL de solução contendo líquido ruminal e inóculo.

O líquido ruminal foi coletado de quatro vacas canuladas no rúmen alimentadas com silagem de milho (80%) e concentrado comercial (20%) a base de farelo de milho, farelo de

soja, calcário, ureia, sulfato de amônio e mistura mineral. Os animais foram adaptados a essa dieta por 14 dias. O fluido ruminal foi coletado três horas após a alimentação matinal dos animais. Este fluido foi filtrado em três camadas de gases e transportado em frascos térmicos pré-aquecidos e mantido a 39°C. O fluido ruminal tamponado foi preparado por meio da adição de líquido ruminal (3,5 mL) ao tampão mineral (23,96 mL) contendo 0,5 mL de solução de sulfeto de sódio na proporção de 1:2 (Menke et al., 1979). Foram adicionados 25 mL dessa solução aos frascos de 50mL sob a corrente de CO<sub>2</sub>. Os frascos foram selados, aferidos quanto a produção de gases e armazenados em sala climatizada a 39°C por 96 horas. A produção de gás foi aferida nos tempos zero, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 22, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 horas após a incubação por meio de um aparato de deslocamento de água (Fedorah; Hrudey, 1983).

A produção do gás CH<sub>4</sub> foi avaliada 12 horas após a incubação. Para análise do CH<sub>4</sub> foram coletados 10 mL do gás presente no interior do frasco utilizando uma seringa de 20 mL. Os gás foi transferido para um extainer de 6,8 mL previamente evacuado (Labco Ltd., High Wycombe, Buckinghamshire, Reino Unido). Os frascos foram imersos em gelo e abertos. A solução (inoculo + amostra) foi filtrada em cadinhos porosos contendo papel filtro qualitativo previamente secos em estufa à 105°C por 12 horas, empregando-se para sucção bomba a vácuo. O potencial de hidrogênio (pH) foi mensurado em uma alíquota de 10 mL de fluido armazenadas a -20 °C.

As concentrações de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foram determinadas em Cromatógrafo de fase Gasosa, Agilent Technologies, modelo 7820A, software de interface EzChrom Elite. A temperatura do forno foi mantida a 55°C por 4,5 minutos. A Calibração do cromatográfico foi realizada com padrões de referência, certificados pela Linde nas concentrações CH<sub>4</sub>: 5,05; 10,2; 14,7; 20,1 e CO<sub>2</sub>: 20,2; 39,7; 58,3; 79,9.

### *2.3. Análises laboratoriais e determinação das variáveis*

Os materiais incubados e os resíduos contidos nos frascos após o tempo de 96 horas de incubação foram analisados quanto aos conteúdos de matéria seca (MS) e cinzas. Os conteúdos de MS foram determinados em estufa a 105 °C [Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990; method ID 934.01]. A partir dos conteúdos de MS e cinzas foram determinados os conteúdos de matéria orgânica (MO) das amostras incubadas e dos resíduos pós-incubação dos tratamentos avaliados. Com base nestes valores, determinou-se a degradabilidade da matéria seca (DMS) e a degradabilidade da matéria orgânica (DMO). A

digestibilidade total da fibra insolúvel em detergente neutro (DTFDN) em % da FDN foi determinada pela técnica near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) padronizada pelo método Combs-Goeser (2013).

A amostras de gases coletadas foram analisadas quanto aos conteúdos de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> por meio de cromatografia gasosa (03 CG-FID Agilent Technologies 7820A, Santa Clara, EUA) de acordo com Holtshausen et al. (2009). O pH dos frascos, nos tempos de 12 e 96 horas, foram determinados por meio de um Peagâmetro (MS TecnoPON®, MPA 210, Piracicaba-SP-Brasil).

O modelo matemático bicompartimental de Pell e Schofield et al. (1994) foi utilizado para avaliação da cinética de produção de gases:  $V(t) = Vf_1: (1+\exp(2-4*C_1(T-L))) + Vf_2: (1+\exp(2-4*C_2(T-L)))$ , em que:  $Vf_1$ : volume máximo de produção de gases pela fração carboidratos não fibrosos (CNF),  $C_1$ =taxa de digestão para fração de CNF, L latência,  $Vf_2$ : = Volume máximo de produção de gases a partir da fração de carboidratos fibrosos (CF),  $C_2$ : Taxa de digestão para a fração de CF, T: tempo de fermentação.

#### 2.4. Análises estatísticas

Os dados de cinética de fermentação ruminal *in vitro* das silagens reensiladas foram submetidos aos testes de Lilliefors e Bartlett para verificação de distribuição da normalidade e homocedasticidade, respectivamente. As respostas foram comparadas segundo delineamento de parcelas subdivididas, em que os inóculos ruminais foram equivalentes aos blocos, os tempos de reensilagem de zero, 12, 24 e 48 horas as parcelas e os tempos de leitura as subparcelas. Este procedimento foi realizado por meio do programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG versão 9.0).

### 3. Resultados

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos tempos de reensilagem em relação à DMS e a DMO após 96 horas de fermentação *in vitro* (Tabela 3).

As produções de CH<sub>4</sub>, os valores de pH e as produções de gases *in vitro* das silagens reensiladas não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os tempos de reensilagem (Tabela 4).

Tabela 3. Degradabilidade *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
	0	12	24	48		
Matéria seca (%MS)	64,98	65,62	63,92	65,24	1.08	> 0,05
Matéria orgânica (%MO)	70,84	71,35	69,75	70,53	0.81	> 0,05

<sup>a</sup>erro padrão da média; <sup>b</sup>significância.

Tabela 4. Rendimento de metano e valores de pH das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>e</sup>	P <sup>f</sup>
	0	12	24	48		
Metano (mL/gMS) <sup>a</sup>	4,74	4,85	5,44	4,68	0,47	> 0,05
Metano (mL/gMS) <sup>b</sup>	44,46	59,78	61,91	57,42	6,49	> 0,05
pH <sup>c</sup>	5,64	5,65	5,63	5,52	0,05	> 0,05
pH <sup>d</sup>	5,48	5,40	5,42	5,48	0,07	> 0,05

<sup>a</sup>matéria seca incubada; <sup>b</sup>matéria seca degradada; <sup>c</sup>no tempo de 12 horas de incubação *in vitro*; <sup>d</sup>no tempo de 96 horas de incubação *in vitro*; <sup>e</sup>erro padrão da média; <sup>f</sup>significância.

O volume de gases e a taxa de produção de gases pela fermentação dos carboidratos fibrosos (CF) e carboidratos não fibrosos (CNF) não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes tempos de reensilagem (Tabela 5). Além disso, o tempo de colonização e a produção acumulativa de gases também não diferiram ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos avaliados (Tabela 5).

Tabela 5. Produção de gases *in vitro* pelas silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>g</sup>	P <sup>h</sup>
	0	12	24	48		
Vf <sub>1</sub> <sup>a</sup>	83,29	78,62	78,94	75,28	4,08	> 0,05
C <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0,036	0,034	0,035	0,034	0,00	> 0,05
Vf <sub>2</sub> <sup>c</sup>	89,86	90,59	86,75	85,05	3,52	> 0,05
C <sub>2</sub> <sup>b</sup>	0,11	0,10	0,10	0,11	0,00	> 0,05
Lag time <sup>e</sup>	3,62	3,83	3,98	3,96	0,11	> 0,05
Produção de gases total <sup>f</sup>	173,15	169,21	165,70	160,34	4,49	> 0,05

<sup>a</sup>volume de gases em mL produzidos pela fermentação de carboidratos não fibrosos; <sup>b</sup>taxa de produção de gases em mL por hora pela fermentação de carboidratos não fibrosos; <sup>c</sup>volume de gases produzidos pela fermentação de carboidratos fibrosos; <sup>d</sup>taxa de produção de gases em mL por hora pela fermentação de carboidratos fibrosos; <sup>e</sup>tempo de colonização em horas; <sup>f</sup>produção de gases em mL por grama de matéria seca incubada no tempo de 96 horas; <sup>g</sup>erro padrão da média; <sup>h</sup>significância.

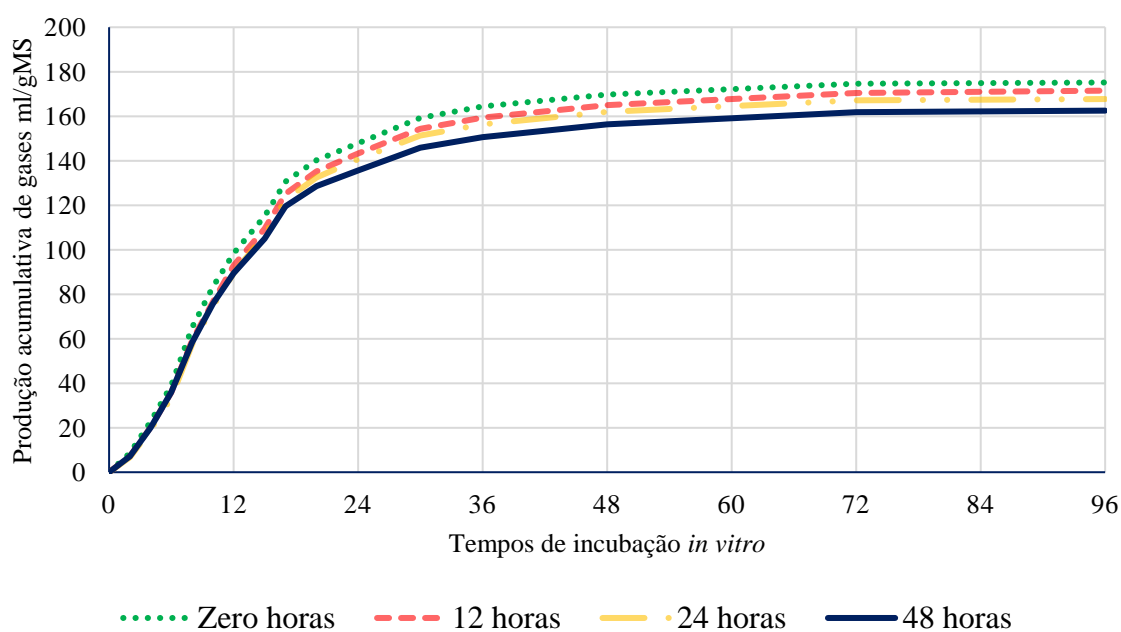


Figura 1. Produção acumulativa de gases *in vitro* em mL/gMS pelas silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

#### 4. Discussão

O volume de gases produzidos durante a fermentação dos substratos analisados por meio da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases mostra a cinética de fermentação dos alimentos utilizados na nutrição de ruminantes (Theodorou et al., 1994). Já a DMS e a DMO do material incubado permitem determinar o desaparecimento do substrato devido a ação dos microrganismos ruminais.

Neste estudo, não houve variação para os valores de DMS e DMO das silagens reensiladas ( $P>0,05$ ; Tabela 3). Para um híbrido de milho com composição química muito similar ao deste estudo, Ribas et al. (2007) verificaram valores de DMS de 61,9%.

Não houve diferença para os valores de produção de  $\text{CH}_4$  em mL/g de MS incubada e degradada ( $P>0,05$ ), com valores médios de 4,92 e 55,89 mL/g de MS, respectivamente (Tabela 4). Os valores de PH no tempo de 12 e 96 horas não foram influenciados pelos diferentes tempos de reensilagem ( $P>0,05$ ), com valores médios de 5,61 e 5,44, respectivamente (Tabela 4).

Os tempos de colonização (*lag time*) (Tabela 5) estão de acordo com os verificados por Ribas et al. (2007) para silagens confeccionadas com híbridos de milho de grãos semiduros e duros. A redução do tempo de colonização é favorecida pela presença de substratos prontamente fermentáveis, ausência de fatores antinutricionais e por características físicas e químicas (como maior ou menor teor de lignina) da parede celular da amostra (Faria Jr. et al., 2010). Como todas as silagens foram confeccionadas com o mesmo híbrido e oriundas da mesma lavoura, a ação dos microrganismos aeróbios e/ou a lixiviação dos carboidratos solúveis durante a reensilagem, como mencionado por Coelho et al. (2018), poderiam ser os únicos fatores a reduzir os conteúdos de carboidratos não fibrosos (CNF) e, com isso, aumentar o *lag time*. Todavia, isso não aconteceu, ocorrendo manutenção dos CNF (Tabela 2) assim como dos demais constituintes nutricionais, o que refletiu na igualdade do *lag time* das silagens avaliadas (Tabela 5;  $P>0,05$ ).

O modelo logístico bicompartimental divide a produção total de gases em dois compartimentos distinguidos pelas suas taxas de digestão (rápida e lenta). Os CNF são mais facilmente degradáveis e, especialmente o amido, pode contribuir para a maior produção de propionato ( $\text{C}_3$ ) em relação a produção de acetato ( $\text{C}_2$ ) e butirato ( $\text{C}_4$ ) ruminal. Na estequiometria da fermentação das hexoses no rúmen, as reações de produção de propionato ( $\text{C}_3$ ) não formam  $\text{CO}_2$ , o que reduz o potencial de produção de gases (Wolin et al. 1983). Portanto, em situações em que as silagens apresentam grande porcentagem de grãos e

menores concentrações de frações fibrosas (Tabela 2), a produção total de gases (Tabela 5) pode ser mais baixa em decorrência da menor contribuição das frações fibrosas.

Neste estudo, a produção de gases pelos CF foi em média 88,07 mL/g MS, enquanto a produção de gases total foi em média 167,10 mL/g de MS. Silva et al. (2014), avaliando 23 híbridos de sorgo verificaram que o volume médio de gases produzidos pela fermentação dos CF e dos CNF foram de 125,28 e 59,06 mL/gMS, respectivamente. Já Possas et al. (2015) verificaram valores médios de produção de gases total de 269,0 mL/gMS para nove híbridos de milho. Com base nos valores averiguados por Silva et al. (2014) e por Possas et al. (2015), respectivamente, é possível afirmar que os valores de produção de gases pelos CF e a produção de gases total foram baixos (Tabela 5). Estes valores demonstram que os CF resultaram em menor contribuição para a produção de gases total. Esta menor contribuição dos CF pode ser justificada pela baixa concentração da fração fibrosa (Tabela 2) das silagens avaliadas e pelos seus baixos valores DTFDN, que foram em média 274,5 g/kg (Tabela 2). De acordo com Getachew et al. (1998), os gases são produzidos quando os substratos são fermentados principalmente a acetato e butirato, ou seja, pela fermentação dos carboidratos fibrosos (CF). Portanto, a menor concentração das frações fibrosas e DTFDN (Tabela 2), que reflete de forma indireta o quanto da fibra poderia ser fermentado pelos microrganismos ruminais, possivelmente, foram os principais fatores a contribuir para a menor produção de gases total e produção de gases pelos CF (Tabela 5).

A técnica semiautomática de produção de gases considera a conversão de todas as principais fontes de carboidratos como monossacarídeos, polissacarídeos, pectinas, amido, celulose e hemicelulose, em CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> e, também, a reação dos ácidos graxos voláteis (AGVs) com o tampão bicarbonato (Mizubuti et al., 2014). Desta forma, a cinética da produção de gases depende das proporções de partículas solúveis, insolúveis, mas degradáveis e não degradáveis do alimento (Getachew et al., 1988). Neste sentido, em situações em que a composição dos alimentos sofre alterações, a cinética de produção de gases certamente será influenciada por tais mudanças. Neste estudo, a composição química das silagens reensiladas (Tabela 2) poderia ter sido influenciada por meio da ação dos microrganismos aeróbios durante a desensilagem e reensilagem dos materiais. No entanto, isso não aconteceu, resultando, desta forma, em ausência de alteração na composição química e qualidade das silagens e na ausência de alteração ( $P > 0.05$ ) nas variáveis estudadas (Tabela 3; Tabela 4; Tabela 5). Esta ausência pode ser atribuída à qualidade das silagens, a temperatura ambiente durante a reensilagem e ao tempo de exposição ao ar, que de forma

conjunta, garantiram a manutenção da composição química (Tabela 2) e da qualidade dos materiais avaliados.

A temperatura ambiente durante a reensilagem foi em média de 18,5 °C (Tabela 1) e Asbheill et al. (2002) só verificaram alteração na qualidade das silagens de milho quando estas foram expostas ao ar por três dias em temperatura constante de 30°C ou por seis dias em temperatura constante de 20°C. Além do mais, todas as silagens apresentaram boa qualidade e Chen et al. (2014) ressalta que esta variável é um fator importante para a ausência de alteração nos materiais reensilados. Portanto, a manutenção da composição química das silagens reensiladas (Tabela 2) pode ser atribuída à qualidade das silagens utilizadas para a reensilagem e pelo binômio de tempo e temperatura ambiente durante a reensilagem dos materiais.

É importante ressaltar que este estudo foi realizado em uma época na qual a reensilagem é muito empregada, o que possibilitou simular as condições de temperatura ambiente e tempo de exposição ao ar utilizado pelos produtores rurais na reensilagem.

## **5. Conclusão**

A exposição das silagens ao ar em condições de temperatura ambiente na qual a reensilagem é frequentemente realizada não influenciou os parâmetros de cinética de fermentação *in vitro* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

## **Agradecimentos**

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil; a Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira – Gado de Leite, Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil; a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); a Escola de Veterinária da Universidade Federal Minas Gerais (EV-UFMG) e a Pró-reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPq-UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, pelo seu apoio e assistência.

## **6. Referências bibliográficas**

ASHBEIL, G.; WEINBERG, Z. G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v.28, p.261-263, 2002.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. 15<sup>th</sup> ed. AOAC International, Arlington, VA, 1990.

BORREANI, G.; BERNARDES, T.F.; TABACCO, E. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality Milk and cheese production chains. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, *suplemento especial*, p.68-77, 2008.

CHEN, Y.; WEINBERG, Z. G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silage on their quality. *Journal of Dairy Science*, v.97, p. 406-410, 2014.

COELHO, M. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; DOS ANJOS, G. V. S.; OTTONI, D.; MICHEL, P. H. F.; JAYME, D. G. Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.53, n.9, p.1045-1052, 2018.

COMBS, D. K. TTNDFD: A new approach to evaluate forages. *Cornell Nutrition Conference*. Department of Animal Science, University of Cornell, Ithaca, NY, 2013.

DOS ANJOS, G.V.S.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; KELLER, K.M.; COELHO, M.M.; MICHEL, P.H.F.; OTTONI, D.; JAYME D.G. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.1–8, 2018.

FARIA JR., W. G.; GONÇALVES, L. C.; MAURÍCIO, R. M.; RODRIGUES, J. A. S.; COLODO, J. C. N.; FARIA, W. G.; SOUZA, L. F. Avaliação das silagens do sorgo BRS-610 em sete estádios de maturação pela técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, p.898-905, 2010.

GETACHEW, G.; BLUMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, v.72, p. 261–281, 1998.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada, *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, p.101-119, 2007.

KARA, K. *In vitro* Methane Production and Quality of Corn Silage Treated with Maleic Acid. *Italian Journal of Animal Science*, v.14, p.3994, 2016.

MENKE, K. H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A.; STEINGASS, H.; FRITS, D.; SHNEIDER, W. The estimation of the digestibility and energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they incubated with liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science Cambridge*, v.93, p.217 – 222 1979.

MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E. L. A.; PEREIRA, E. S.; 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, Londrina*, v. 35, n.1, p.555-566, 2014.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.1063-1073, 1994.

PÔSSAS, F. P.; GONÇALVES, L. C.; PEREIRA, L. G. R.; MACHADO, F. S.; JAYME, D. G.; RODRIGUES, J. A. S.; RODRIGUEZ, N. M.; TOMICH, T.R. Cinética de fermentação ruminal das silagens de três híbridos de milho comerciais em diferentes estádios de maturação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.67, n.1, p.159-165, 2015.

RANJIT, N. K.; KUNG, J. R. L. The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. *Journal Dairy Science*, v.83, p.526–535, 2000.

RIBAS, M. N., GONÇALVES, L. C. AND MAURÍCIO, R. M. Degradabilidade e cinética de fermentação ruminal das silagens de quatro híbridos de milho avaliadas pela técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.6, n.2, p.223-233, 2007.

SILVA, T. C.; SANTOS, E. M.; MACEDO, C. H. O.; LIMA, M. A.; AZEVEDO, J. A. G.; PINHO, R. M. A.; PERAZZO, A. F.; OLIVEIRA, J. S. Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de silagens de híbridos de sorgo. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.66, n.6, p.1865-1873, 2014.

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

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. Journal Animal Science, v.43, p.1452-1459, 1983.

## CAPITULO IV

### Cinética de degradação ruminal das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

#### Resumo

A aquisição de silagens e a sua reensilagem tem sido a solução para a eventual escassez de volumosos em muitas propriedades rurais. Porém, esta prática pode alterar o valor nutricional dos materiais reensilados por sua exposição ao ar. Objetivou-se determinar a cinética de degradação ruminal dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar. Após 56 dias de ensilagem, parte dos silos foram desensilados e reensilados nos tempos de 12, 24 e 48 de exposição ao ar. Após 56 dias de reensilagem, os silos foram abertos e utilizados para a realização do ensaio de cinética de degradação ruminal dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas. Para este ensaio foram utilizadas quatro vacas fistuladas no rúmen. Em cada um dos quatro animais e nos tempos 0, 6, 12, 24, 48, 96 e 120 horas, foram incubados 4,2 gramas de silagem de cada tratamento. O maior valor de potencial de degradação ruminal da matéria orgânica (MO) foi verificado para o tratamento de 24 horas de reensilagem, que foi de 87,17%, sendo 2,98% superior ao tempo zero de zero hora de reensilagem. A taxa de desaparecimento (*C*) da MO para o tratamento sem a reensilagem foi de 1,87%/hora, sendo superior em 5,05%, 27,21% e 7,47%, aos tratamentos de 12, 24 e 48 horas de reensilagem, respectivamente. O maior valor da fração solúvel (*S*) da matéria orgânica (MO) foi observado para tratamento controle, que foi de 29,93%, sendo superior em 10,56%, 5,95% e 13,75%, aos tempos de 12, 24 e 48 horas de reensilagem, respectivamente. Os maiores valores de degradabilidade efetiva da MO foram verificados para o tratamento controle, que foram superiores em relação à média dos demais tratamentos em 9,51%, 9,33% e 9,27%, para as taxas de passagem de 2%, 5% e 8%/hora, respectivamente. Os valores de cinética de fermentação ruminal verificados neste estudo não influenciam a recomendação prática do uso ou não da reensilagem. Portanto, com base neste estudo, a reensilagem pode ser realizada.

**Palavras-chave:** degradabilidade da matéria orgânica, , reensilagem, valor nutricional.

## 1. Introdução

No Brasil, o excesso de perdas em silagens durante o armazenamento (Michel et al. 2016), as limitações territoriais e de clima, e a falta de alguns maquinários adequados para a ensilagem, têm feito com que muitos produtores rurais adquiram silagens e as reensilem. Esta prática tem solucionado a escassez de volumosos em muitas propriedades rurais, porém, alterações na qualidade nutricional destes materiais podem ocorrer devido a sua exposição ao ar.

Quando o oxigênio é introduzido na silagem, microrganismos aeróbicos começam a se multiplicar, consumindo inicialmente os substratos solúveis e depois os compostos mais complexos (Borreani et al., 2018). Os principais substratos utilizados pelos microrganismos aeróbicos presentes nas silagens são os ácidos orgânicos, o etanol e os açúcares solúveis (Jobim et al., 2007), resultando em um processo denominado de deterioração aeróbia das silagens. Este processo é prejudicial, pois ocasiona o consumo dos carboidratos não fibrosos (CNF), que são de alta taxa de degradabilidade, e proporciona um aumento relativo das frações fibrosas, que são de baixa taxa degradabilidade.

Mesmo não verificando influência dos microrganismos aeróbicos, Coelho et al. (2018) observaram que a exposição das silagens ao ar durante a reensilagem resultou em um aumento relativo das frações fibrosas por meio da lixiviação dos constituintes solúveis. Desta forma, nas silagens, tanto as alterações mencionadas por Jobim et al. (2007) quanto a verificadas por Coelho et al. (2018) podem, de forma conjunta ou isolada, aumentar relativamente as frações fibrosas. Isto, por sua vez, pode comprometer o desempenho animal por meio da limitação na taxa de degradação e digestão das silagens.

Em um estudo realizado por Bolsen et al. (2000), foi verificado que a adição de silagens que passaram por deterioração aeróbia na dieta de bovinos resultou em comprometimento da integridade do “*mat*” ruminal. Portanto, a ação dos microrganismos aeróbicos pode ser prejudicial não só pelo seu efeito direto sobre a composição das silagens e degradação das silagens, mas, também, por sua ação negativa sobre a fermentação ruminal.

De fato, a reensilagem surge como uma solução para a escassez de volumosos em muitas propriedades Brasileiras. Entretanto, a exposição destes materiais ao ar pode resultar na sua deterioração aeróbia, comprometendo assim, o seu valor nutritivo. Desta forma, objetivou-se determinar o valor nutricional das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar por meio da técnica de degradabilidade *in situ*.

## 2. Material e métodos

Este estudo recebeu a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite, sob o número de protocolo 03/2014, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal.

### 2.1. Ensilagem e reensilagem

O híbrido de milho BRS 1060 foi cultivado Embrapa Milho e Sorgo, localizada no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19° 28'S, longitude 44° 15'W e altitude de 732m). No plantio da lavoura foram utilizados 400 kg de 08-28-16 (N:P:K) + 5% de Zn e na adubação de cobertura, que ocorreu 30 dias após o plantio, utilizou-se 100 kg de nitrogênio/hectare. Após 107 dias de plantio, foram coletadas amostras de plantas inteiras para determinação das frações colmo, folhas e espigas. Já o restante das plantas de milho foi colhido, triturado e ensilado em tambores de 200 litros revestidos com sacos plásticos. Foram confeccionados 80 silos (tambores) experimentais. Após 56 dias de ensilagem, os tambores foram conduzidos para um galpão coberto e com piso de cimento. Neste local, os 80 tambores foram divididos em 4 grupos, de 20 tambores cada. Após a divisão, um grupo contendo 20 tambores de silagem permaneceu fechado (controle). Já os demais grupos de tambores foram desensilados, formando uma pilha de silagem para cada grupo de 20 tambores (tratamento). Após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar, os materiais de cada uma das pilhas foram recolhidos e reensilados utilizando os mesmos procedimentos empregados na ensilagem.

Tabela 1. Temperatura ambiente observadas durante a realização da reensilagem

Dias da reensilagem	Horas do dia			T °C	T °C	T °C
	12:00	16:00	24:00	Máxima.	Mínima.	Média.
10/07/2013	19,7	25,8	18,2	26,6	12,9	19,12
11/07/2013	18,9	22,0	15,1	24,8	11,2	17,02
12/07/2013	19,7	24,3	16,6	25,4	10,3	17,72

Os dados de temperatura foram obtidos na estação meteorológica da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

Após 56 dias de reensilagem, os tambores contendo as silagens foram abertos e as silagens contidas em seu interior foram amostradas para a realização do ensaio de degradabilidade *in situ* das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar. Foram realizadas amostragens na parte superior, central e inferior das silagens contidas em cada um dos tambores. As amostras, iguais em forma de amostragem e peso, de cada um dos tambores, foram utilizadas para a confecção de uma única amostra composta, obtendo-se ao final uma amostra por tratamento. Estas amostras foram secas em estufa a 55°C (AOAC, 1990), moídas em moinho (moinho Wiley; A. H. Thomas, Filadélfia, PA) utilizando peneira de 5mm e armazenadas em frascos de polietileno até a realização do ensaio de degradabilidade *in situ* das.

As plantas de milho utilizadas na confecção das silagens apresentaram um percentual de colmo, folhas e espigas de 31,93%, 16,06% e 52,01%, respectivamente.

## 2.2. Análise da degradabilidade *in situ* das silagens de milho reensiladas

O ensaio de degradabilidade *in situ* das silagens de milho reensiladas foi realizado na Embrapa Gado de leite, Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil. Neste ensaio foram utilizadas quatro vacas fistuladas no rúmen. Diariamente, os animais receberão *ad libitum* silagem de milho e mais 3 kg de concentrado comercial com 18% de PB.

Na realização deste estudo, 4,2 gramas de cada uma das silagens foram incubados em sacos de náilon de 18 cm de altura e 9,5 cm de largura (16,67 mg de amostra/cm<sup>2</sup>, considerando 13 cm de altura livre), com poros de 40 mm e ancorados em uma corrente.

Os tempos de incubação avaliados foram: 0, 6, 12, 24, 48, 96 e 120 horas. O tempo zero não foi incubado, sendo os sacos de náilon lavados em água corrente para determinar a quantidade de material solúvel em água. Para os tempos de 0, 6 e 12 horas de avaliação, foram usados três sacos de náilon para cada tratamento avaliado. Já nos tempos de 24, 48, 96 e 120 horas de avaliação, foram usados quatro sacos de náilon para cada tratamento. Os sacos de náilon contendo as amostras foram presos ao longo de uma corrente e introduzidas dentro do rúmen. Esta corrente estava ancorada à parte externa da cânula ruminal através de uma corda. Cada animal continha os tratamentos sob o mesmo tempo de incubação, de modo que todos os sacos de náilon, em um mesmo rúmen, fossem retirados de uma só vez.

Os sacos de náilon foram incubados 3 horas após o fornecimento da alimentação para os animais e retirados após completar os tempos de incubação pré-determinados. Imediatamente após a retirada, os sacos de náilon foram lavados em água até que esta ficasse

com aspecto límpido. Após a lavagem, os sacos de náilon foram secos em estufa de ventilação forçada regulada a 55°C, por um período de 72 horas, transferidas para um dessecador por 15 minutos e pesados. Posteriormente as amostras foram moídas a 1mm para a realização das análises laboratoriais.

### 2.3. Análises laboratoriais e determinação das variáveis

O material incubado e o resíduo contido nos sacos de náilon após cada tempo de incubação foram analisados quanto aos conteúdos de matéria seca (MS), cinzas, matéria orgânica (MO) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN). Os conteúdos de MS foram determinados em estufa a 105 °C [Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990; method ID 934.01]. A partir dos conteúdos de MS e cinzas foram determinados os conteúdos de matéria orgânica (MO) das amostras incubadas e dos resíduos pós incubação dos tratamentos avaliados. Com base nestes valores, determinou-se degradabilidade da matéria orgânica (DMO).

Tabela 2. Composição química das silagens de milho reensiladas em diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempo de exposição ao ar (horas)			
	0	12	24	48
Matéria seca (g/kg)	355,00	365,60	365,00	369,40
Cinzas (g/kg MS)	31,10	34,78	35,36	35,95
Extrato etéreo (g/kg MS)	42,50	39,20	40,10	38,00
Proteína bruta (g/kg MS)	79,40	81,30	79,20	79,50
Fibra insolúvel em detergente neutro <sup>a</sup> (g/kg MS)	389,30	410,10	420,40	429,00
Fibra insolúvel em detergente ácido <sup>a</sup> (g/kg MS)	221,10	235,90	247,70	240,70
Carboidratos não fibrosos (g/kg MS)	457,76	434,71	425,02	417,64
Lignina (g/kg MS)	9,40	12,3	9,20	11,8

<sup>a</sup>corrigida para cinzas e proteínas.

Já a FDN do material incubado e do resíduo pós-incubação foram determinados pelo método sequencial de acordo com Van Soest et al. (1991). Na análise da FDN foi utilizado

a  $\alpha$ -amilase termoestável. A partir dos valores de FDN presentes no material incubado e pós-incubação foram obtidos os valores de degradabilidade da FDN.

#### 2.4. Análises estatísticas

Para a análise dos dados foi empregado um delineamento experimental de blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas, tendo os animais como blocos, os tempos de reensilagem como parcelas e os tempos de incubação ruminal como subparcelas, segundo o seguinte modelo estatístico:  $Y_{ijk} = \mu + B_i + R_j + T_k + RT_{jk} + e_{ij}$ , em que:  $Y_{ijk}$  = valor referente à observação do tempo de reensilagem  $j$ , no bloco  $i$  e no tempo de incubação  $k$ ;  $\mu$  = média geral;  $B_i$  = efeito do bloco  $i$  ( $i = 1, 2, 3, 4$ );  $R_j$  = efeito do tempo de exposição ao ar  $j$  ( $j = 1, 2, 3, 4$ );  $T_k$  = efeito do tempo de incubação  $k$  ( $k = 6, 12, 24, 48, 96$ );  $RT_{jk}$  = interação dos efeitos do tempo de exposição ao ar  $j$  com o tempo de incubação  $k$ ;  $e_{ijk}$  = erro aleatório associado à observação.

#### 2.5. Modelagem para a determinação da degradabilidade *in situ*

A degradabilidade da MO e da FDN foi estimada de acordo com Sampaio et al. (1995), utilizando o seguinte modelo:

$$D_p = a + b \cdot e^{-ct}$$

*Em que:*

- $D_p$  = percentagem de degradação após um tempo ( $t$ ) de incubação;
- $a$  = percentagem máxima de degradação do material incubado em um tempo  $t$ . Esta variável corresponde a  $a + b$  do modelo proposto por Ørskov e McDonald (1979).
- $b$  = degradabilidade potencial do material incubado a partir do momento da incubação;
- $c$  = taxa constante de degradação (%/hora);
- $t$  = tempo de incubação em horas.

A degradabilidade efetiva da MO e da FDN foi estimada de acordo com o modelo proposto por Orskov e McDonald (1979), levando-se em conta a taxa de passagem de sólidos no rúmen de 2%, 5% e 8%/hora ( $h$ ).

### 3. Resultados

Tabela 3. Parâmetros de cinética de degradação ruminal dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Parâmetros	Tempos de reensilagem (h)			
	Zero	12	24	48
<i>Matéria orgânica</i>				
A (%)	84,64	83,32	87,17	85,25
B (%)	42,03	43,81	46,30	48,55
C (%/h)	1,87	1,78	1,47	1,74
R <sup>2</sup>	0,98	0,97	0,97	0,98
S (%)	29,93	27,07	28,25	26,31
DE (2%)	62,60	59,62	59,92	58,99
DE (5%)	53,81	50,60	50,98	49,01
DE (8%)	50,40	47,17	47,75	45,20
<i>Fibra insolúvel em detergente neutro</i>				
A (%)	84,93	90,15	95,83	87,38
B (%)	92,85	95,87	100,0	93,13
C (%/h)	1,05	0,88	0,82	0,95
R <sup>2</sup>	0,96	0,97	0,97	0,97
S (%)	15,17	10,57	5,79	5,50
DE (2%)	25,90	23,08	26,11	26,33
DE (5%)	12,27	10,74	12,49	13,04
DE (8%)	8,04	6,98	8,21	8,66

A= Potencial de degradação; B = Sem valor Biológico; C = taxa de degradação; S= fração solúvel; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; DE (2%) = degradabilidade efetiva para a taxa de passagem de sólidos no rúmen de 2% por hora; DE (5%)= degradabilidade efetiva para a taxa de passagem de sólidos no rúmen de 5% por hora; DE (8%) = degradabilidade efetiva para a taxa de sólidos no rúmen de 8% por hora.

Os parâmetros de cinética de degradação ruminal da matéria orgânica (MO) foram influenciados pelos diferentes tempos de reensilagem ( $P < 0,01$ ). Já os diferentes tempos de incubação não sofreram influência dos diferentes tempos de reensilagem ( $P > 0,05$ ).

A cinética de degradação da FDN não ( $P > 0,05$ ) sofreu efeito dos diferentes tempos de reensilagem.

O maior desaparecimento potencial (A) da MO foi verificado para o tempo de 24 horas de reensilagem, que foi de 2,98% superior ao tempo zero hora de reensilagem (controle) (Tabela 3). Por outro lado, o menor valor de A para a MO foi verificado para o tratamento de 12 horas de reensilagem, que foi de 1,55% menor em relação ao tratamento controle zero hora de reensilagem.

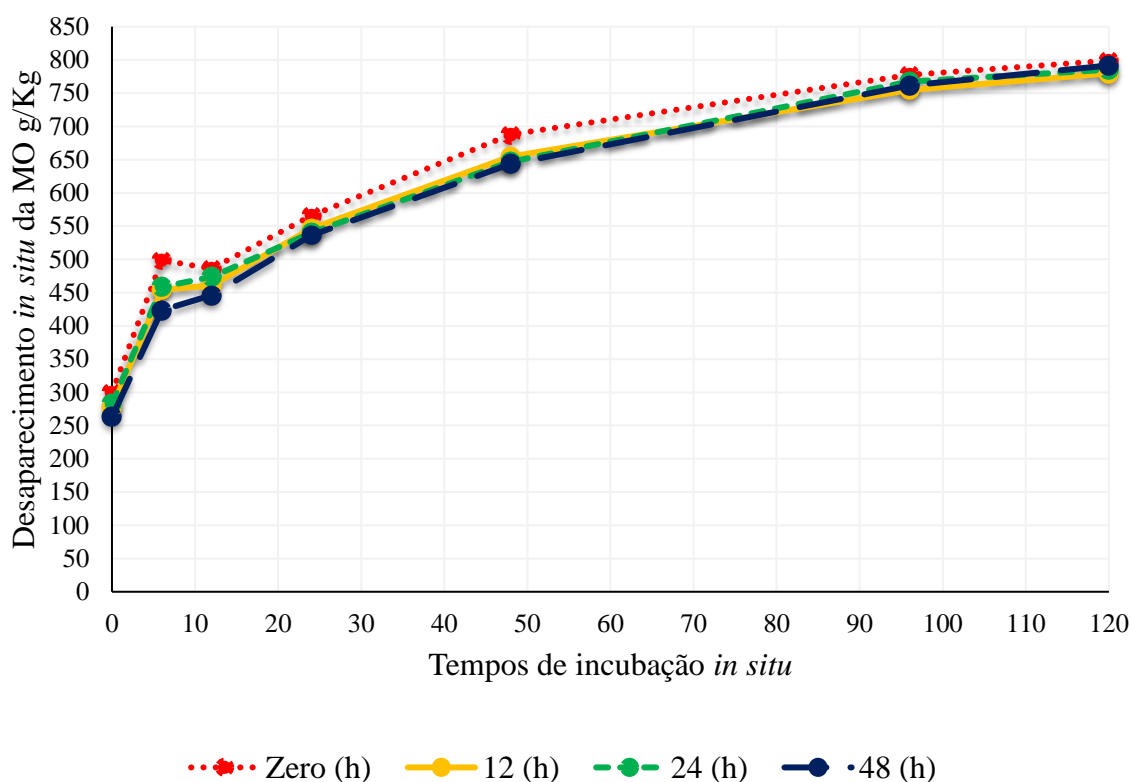


Figura 1. Desaparecimento da matéria orgânica das silagens de milho reensiladas ao longo dos tempos de incubação *in situ*.

A taxa de desaparecimento (C) da MO para o tratamento controle foi maior, sendo superior em 5,05%, 27,21% e 7,47%, aos tempos de 12, 24 e 48 horas de reensilagem, respectivamente (Tabela 3).

O maior valor da fração solúvel (*S*) da MO foi observado para o tempo de zero hora de reensilagem, que foi superior em 10,56%, 5,95% e 13,75%, aos tempos de 12, 24 e 48 horas de reensilagem, respectivamente (Tabela 3).

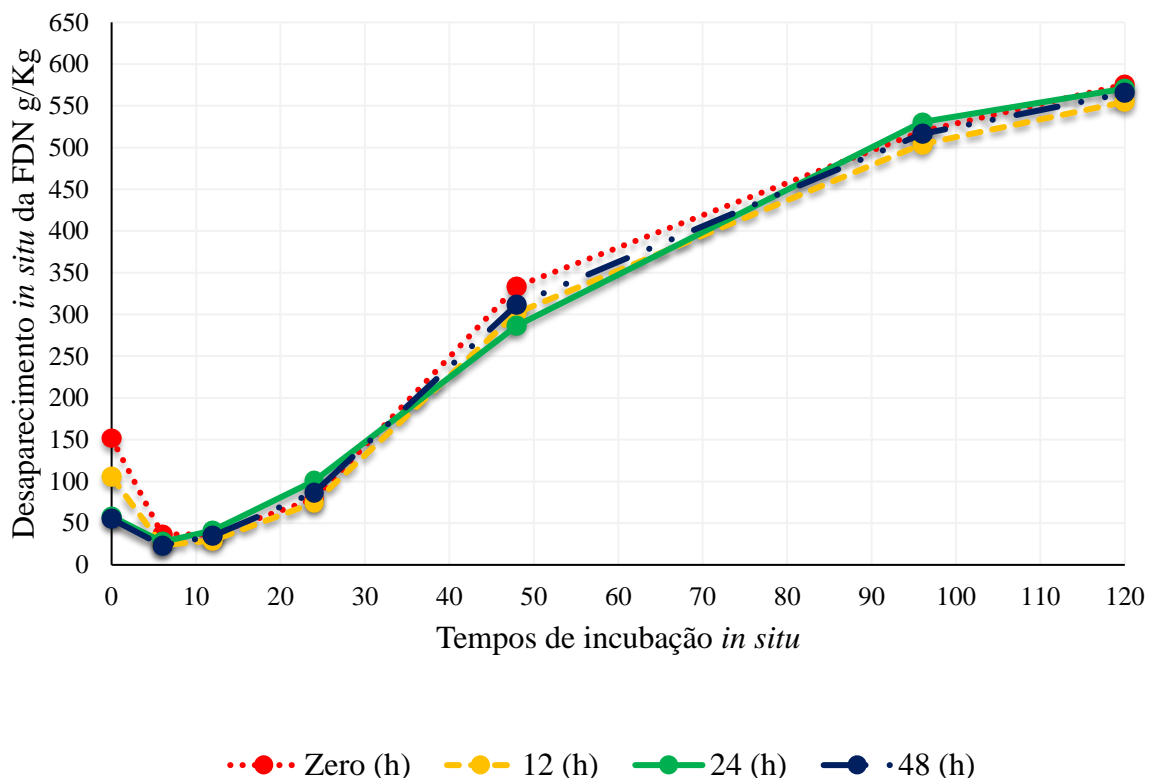


Figura 2. Desaparecimento da fibra insolúvel em detergente neutro das silagens de milho reensiladas ao longo dos tempos de incubação *in situ*.

Os maiores valores de degradabilidade efetiva da matéria orgânica (DEMO) foram verificados para o tempo de zero hora de reensilagem (Tabela 3; Gráfico 1), que foram superiores em relação à média dos demais tratamentos em 9,51%, 9,33% e 9,27%, para as taxas de passagem de 2%, 5% e 8% por hora, respectivamente.

#### 4. Discussão

As forrageiras com maiores taxas de desaparecimentos *in situ* são as que apresentam menores conteúdos de FDN e lignina (Rodrigues et al., 2004). Desta forma, isto poderia sugerir que o tempo de zero hora de reensilagem continha menor concentração de FDN e lignina e uma maior concentração de CNF em relação aos demais tratamentos testados. Isto

poderia ter ocorrido por causa da ação dos microrganismos aeróbios ao consumir os nutrientes solúveis das silagens expostas ao ar nos tempos de 12, 24 e 48 horas de reensilagem. Com base nos valores da fração solúvel (*S*) da matéria orgânica (MO) em função dos tempos de exposição ao ar (Tabela 3), esta inferência da ação dos microrganismos aeróbios poderia ser verdadeira. No entanto, os valores da fração *S* da FDN demonstram que o material solubilizado no tempo zero de incubação não era composto somente por frações solúveis, mas, também, por frações fibrosas que escaparam pelos poros dos sacos de náilon incubados.

Conblentz et al. (2000), ressaltam que as pequenas porções de FDN que não são recuperadas durante a lavagem (zero horas de incubação) podem estar associadas, em partes, a perda direta de pequenas partículas pelos poros dos sacos de incubação. Isto por que a FDN não constitui uma fração solúvel (Van Soest et al., 1991). Logo, os valores de sua fração *S* deveriam ser próximos de zero. Porém, isso não foi verificado, com os valores de *S* variando entre 15,7% (tempo de zero hora de reensilagem) a 5,5% (tempo de 48 horas de reensilagem) (Tabela 3). Diante disso, é possível verificar que, neste estudo, houve interferência de fatores ligados a aplicação da técnica de degradabilidade *in situ* em relação as variáveis estudadas (Tabela 3). Está interferência pode estar relacionada a moagem do material e, mais especificamente, ao tamanho das partículas do material utilizado.

Para a moagem de amostras para incubação *in situ*, as recomendações têm apresentado algumas variações, com o tamanho de peneira de 1,5 a 3,0 mm para alimentos concentrados e de 1,5 a 5,0 mm para forrageiras (Vanzant et al., 1998). No processamento das amostras, apesar de ter sido usado uma peneira de 5,0 mm para a moagem, o tamanho médio de partículas macroscopicamente se mostrava menor em relação as silagens de milho processadas em nosso laboratório. Portanto, é provável que o material, por estar muito seco, fragmentou muito durante a moagem e, com isso, uma maior parte das partículas ficaram com tamanho menor em relação aos materiais moídos a 5,0 mm. Este menor tamanho de partículas, por sua vez, resultou em maior escape de material de lenta degradação e indegradável pelos poros dos sacos de náilon incubados.

A qualidade da forrageira deve ser interpretada pelo seu potencial de degradação (*A*) e pela sua taxa de degradação (*C*) (Sampaio et al., 1995). Os valores de *A* para o DMO apresentaram uma variação média de 4,62% entre o maior e o menor valor (Tabela 5). Porém, merecem destaque os valores de *C*, que apresentou variação de 21,03% entre os valores de DMO (Tabela 3). Cabe destacar que o maior valor de DMO foi verificado para o tempo de

zero de reensilagem (Tabela 3). O tempo de zero hora de reensilagem também apresentou maior degradabilidade efetiva da matéria orgânica (DEMO) (Tabela 3).

Levando em consideração todos os valores de cinética de degradação (Tabela 3), é possível constatar que as diferenças verificadas não foram tão altas. Isto está de acordo Nocek et al. (1998), que ressaltam que os materiais mais finamente moídos estão sujeitos a maiores perdas pelos poros dos sacos de náilon, resultando em rápidas taxas de digestão e menor variação dos resultados.

Neste estudo, os valores da fração solúvel (*S*) da matéria orgânica (MO) foram em média 27,89% (Tabela 3). Estes valores da fração *S* estão relacionados aos altos conteúdos de espigas no material ensilado, que resultou em altos conteúdos de CNF nas silagens avaliadas (Tabela 3) e maior concentração das frações solúveis.

A quantidade dos nutrientes ingeridos que realmente é absorvida depende da taxa de fermentação ruminal e do tempo de permanência ao ataque microbiano, pois a fração efetivamente degradada é função das taxas de degradação e passagem (Mello et al., 2006). Desta forma, de acordo com Combs (2013), a digestibilidade da dieta pode ser sumarizada como o resultado da fração do alimento potencialmente digestível em relação à taxa de passagem da digesta.

Para a taxa de passagem de 2%, 5% e 8% por hora, os valores médios de DEMO foram de 59,5%, 51,1% e 47,6%, respectivamente. Estes valores foram superiores aos 43,5%, 29,8% e 24,68% verificados por Calvacanti et al. (2012), para a taxa de passagem de 2%, 5% e 8% por hora, respectivamente, para a degradabilidade efetiva da matéria seca (DEMS) de silagens de milho. Em silagens de milho, considerando-se uma taxa de passagem de 5% por hora, Gimenes et al. (2006) verificaram que os valores médios de DEMO foram de 39,57%. Com base nestes valores, pode-se afirmar que a DEMO foi alta (Tabela 3) e pode ser justificada pelos altos conteúdos de espigas no material ensilado, que foi em média de 52,01%.

O alto conteúdo de espigas no material ensilado, que foi 52,01%, resulta em maiores conteúdos de CNF. Este, por sua vez, resulta em silagens com altos valores de DEMO (Tabela 3).

Ao comparar a percentagem de desaparecimento da MO e FDN, gráfico 1 e gráfico 2, respectivamente, no tempo de 50 horas de incubação e relacioná-las com a percentagem de espigas (52,01%) e com o conteúdo de CNF e FDN das silagens incubadas (Tabela 2), pode-se afirmar que os conteúdos de espigas foram os fatores responsáveis pelos altos valores de

DMO das silagens estudadas. Portanto, é importante que na escolha de um material genético a ser cultivado para a ensilagem, o seu desempenho agrônomo, com base nas relações entre as diferentes frações da planta, seja levado em consideração.

Pelos altos valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ), é possível verificar que os valores médios de desaparecimento da MO e FDN se adequaram ao modelo exponencial proposto por Ørskov & McDonald (1979) e adaptado por Sampaio (1995).

Neste estudo, as principais variações observadas podem ser atribuídas a variabilidade na aplicação da técnica *in situ*. Portanto, os diferentes tempos de reensilagem não foram suficientes para influenciar as variáveis estudadas (Tabela 3; Figura 1; Figura 2).

As ausências de alterações nas variáveis estudadas para as silagens de milho expostas ao ar durante a reensilagem podem ser justificadas pela qualidade das silagens utilizadas, pela temperatura ambiente e pelo tempo de exposição dos materiais ao ar (Tabela 1). De acordo com Dos Anjos et al. (2018), a qualidade das silagens é um fator importante para se obter êxito com a reensilagem. Já Koc et al. (2009), verificaram que as silagens são mais propensas a deterioração aeróbia em temperaturas ambientes próximas a 30 °C e, nesta temperatura, Asbheill et al. (2002) só verificaram alteração na qualidade dos materiais quando as silagens foram expostas ao ar por no mínimo três dias. Desta forma, os valores de tempo e temperatura de exposição ao ar (Tabela 3), aliados a qualidade das silagens, contribuíram diretamente para a ausência de alterações nas variáveis analisadas.

É importante ressaltar que este estudo foi realizado em uma época na qual a reensilagem é muito empregada, o que possibilitou simular as condições de temperatura ambiente e tempo de exposição ao ar utilizado pelos produtores rurais na reensilagem.

Os maiores valores de cinética de degradação ruminal das silagens de milho reensiladas verificados para o tratamento controle estão relacionados com uma das limitações da técnica de degradabilidade *in situ* (Tabela 3). Portanto, a reensilagem não comprometeu o valor nutricional das silagens de milho reensiladas.

## **5. Conclusão**

A exposição das silagens ao ar em condições de temperatura ambiente na qual a reensilagem é frequentemente realizada não influenciou os parâmetros de cinética de degradação ruminal das silagens reensiladas.

## **Agradecimentos**

A Empresa de pesquisa Agropecuária Brasileira – Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil; a Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira – Gado de Leite, Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil; a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); a Escola de Veterinária da Universidade Federal Minas Gerais (EV-UFMG) e a Pró-reitora de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPq-UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, pelo seu apoio e assistência.

## **6. Referências bibliográficas**

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v.28, p.261-263, 2002.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. 15<sup>th</sup> ed. AOAC International, Arlington, VA, 1990.

BOLSEN, K. K.; WHITLOCK, L.A.; HUCK, G. L.; SIEFERS, M. K.; SCHMIDT, T. E.; POPE, R. V.; URIARTE, M. E. Effect of Level of Surface Spoilage on the Nutritive Value of Maize Silage Diets. *Australasian Journal of Animal Sciences*, 13 Supplement July, p.121-122, 2000.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; SCHMIDT, R. J.; HOLMES, B.J.; R. MUCK, R.E. *Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages*. *Journal of Dairy Science* Vol. 101, n. 5, p.3952-3979, 2018.

CAVALCANTE, D. R.; PERIN, F. B.; BENEDETTI, E. Degradabilidade *in situ* da matéria seca de três forrageiras tropicais nas formas in natura e ensilada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.64, n.1, p.163-168, 2012.

COELHO, M. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; DOS ANJOS, G. V. S.; OTTONI, D.; MICHEL, P. H. F.; JAYME, D. G. Chemical characteristics,

aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.53, n.9, p.1045-1052, 2018.

COBLENTZ, W.K.; COFFEY, K. O.; TURNER, J. E.; SCARBROUGH, D. A.; WEYERS, J. S.; HARRISON, K. F.; JOHNSON, Z. B.; DANIELS, L. B.; ROSENKRANS JR, C. F.; KELLOGG, D. W.; HUBBELL, D. S. Effect of Maturity on Degradation Kinetics of Sod-Seeded Cereal Grain Forage Grown in Northern Arkansas. *Journal Dairy Science*, v.83, p.2499–2511, 2000.

COMBS, D. K. TTNDFD: A new approach to evaluate forages. *Cornell Nutrition Conf. Dept. Anim. Sci., Univ. Cornell, Ithaca, NY*, 2013.

DOS ANJOS, G.V.S.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; KELLER, K.M.; COELHO, M.M.; MICHEL, P.H.F.; OTTONI, D.; JAYME D.G. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *Journal Dairy Science*, v.101, p.1–8, 2018.

GIMENES, A. L.G.; MIZUBUTI, I. Y.; MOREIRA, F. B.; PEREIRA, E. S.; RIBEIRO, E. L. A.; MORI, R. M. Degradabilidade *in situ* de silagens de milho confeccionadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, v. 28, n. 1, p. 11-16, Jan./March, 2006.

JOBIM, C.C.; REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; SCHOKEN-ITURRINO, R.P. Presença de microrganismos na silagem de grãos úmidos de milho ensilado com diferentes proporções de sabugo. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, Brasília, v. 32, n.2, p.201-204, 1997.

KOC, F.; COSKUNTUNA, L.; OZDUVEN. M. L. The effects of temperature on the silage microbiology and aerobic stability of corn and vetch-grain silages. *Acta Agricultura e Scand Section*, v.59, p.239-246, 2009.

MELLO, R.; NÖRNBERG, J. L.; QUEIROZ, A. C.; MIRANDA, E. N.; MAGALHÃES, A. R.; DAVID, D. B.; SARMENTO, L. R. Composição química, digestibilidade e cinética de degradação ruminal das silagens de híbridos de girassol em diferentes épocas de semeadura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.1523-1534, 2006.

MICHEL, P. H. F.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; RAPOSO, V. S.; LIMA, E. M.; SANTOS, F. P. C.; JAYME, D. G. Re-ensiling and inoculants application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionicum* sorghum silages. *Grass Forage Science*, v.72, p.432–440, 2016.

NOCEK, J. E. *In Situ* and Other Methods to Estimate Ruminant Protein and Energy Digestibility: A Review. *Dairy Science*, v71, p.2051-2069, 1988.

ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, J. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed in weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, v.92, p.499-503, 1979.

ØRSKOV, E. R.; DEB HOVELL, F. D.; MOULD, F. THE USE OF THE NYLON BAG TECHNIQUE FOR THE EVALUATION OF FEEDSTUFFS. *Tropical Animal Produção*, v.5, p.3, 1980.

RODRIGUES, A. L. P.; SAMPAIO, I. B. M.; CARNEIRO, J. C.; TOMICH, T. R.; AND MARTINS, R. G.R. Degradabilidade *in situ* matéria seca de forrageiras tropicais obtidas em diferentes épocas de corte. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v.56, n.5, p.658-664, 2004.

SAMPAIO, I.B.M.; PIKE, D.J.; OWEN, E. Optimal design for studying dry matter degradation in the rumen. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 47, p.373-383, 1995.

VANZANT, E. S.; COCHRAN, R. C.; TITGEMEYER, E. C. Standardization of *In Situ* Techniques for Ruminant Feedstuff Evaluation. *Journal Animal Science*, v.76, p.2717–2729, 1998.

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

## CAPITULO V

### **Comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas**

#### **Resumo**

A reensilagem é uma prática que tem aumentado no Brasil nos últimos anos, assim como já acontece em outros países. Durante a transferência, as silagens são expostas ao ar por diferentes tempos. Esta exposição ao ar pode resultar em alteração da composição química e qualidade das silagens, por meio de um processo denominado de deterioração aeróbia, podendo comprometer sua aceitação, o consumo e a digestibilidade aparente pelos ruminantes. Diante disso, objetivou-se determinar o comportamento ingestivo, o consumo, a digestibilidade e o balanço de nitrogênio em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar. Foram confeccionados 80 silos, após 56 dias de ensilagem, 60 deles foram desensilados e reensilados nos tempos de 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar. Após 56 dias de reensilagem, os silos foram abertos e utilizados para a realização do ensaio de comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade aparente em ovinos. Para este ensaio foram utilizados 20 ovinos adultos, com peso médio de 37,8kg (+-7kg). Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais e alimentados duas vezes ao dia de forma a proporcionar, aproximadamente, 150 g/kg de sobras por animal por dia. O comportamento ingestivo, o consumo e a digestibilidade dos componentes nutricionais e o balanço de nitrogênio dos ovinos não foram influenciados pelos diferentes tempos de reensilagem ( $P>0,05$ ). Cabe ressaltar que os valores de digestibilidade da fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas (FDNcp) foram baixos, com média de 266,5 g/kg, enquanto a excreção de nitrogênio (N) pelas fezes foi alta, com valores entre 473,0 g/kg a 511,3 g/kg por animal por dia. Os diferentes tempos de exposição ao ar não alterou o comportamento ingestivo, o consumo, a digestibilidade dos componentes nutricionais e o balanço de nitrogênio das silagens de milho reensiladas.

**Palavras-chave:** ingestão, perdas aeróbias, reensilagem, transferência de silagens, valor nutritivo

## 1. Introdução

A silagem de milho é uma importante opção de suplementação volumosa por apresentar alto conteúdo de energia, fácil mecanização, fácil armazenamento (Oshita et al., 2007) e bom valor nutritivo. Porém, para a obtenção de uma silagem com bom valor nutritivo, a escolha do híbrido, do ponto de colheita da planta e as condições de anaerobiose no silo não podem ser negligenciadas.

O grau de anaerobiose presente no silo é o fator mais importante para a eficiência de conservação de forrageiras na forma de silagem (Woolford, 1990).

Durante o armazenamento, a vedação incorreta e a abertura do silo para a alimentação dos animais, expõem as silagens ao ar (Weinberg e Ashbell, 1994). Além destas práticas, Dos Anjos et al. (2018), Erickson et al. (2012), Chen et al. (2014) e Michel et al. (2016) têm mencionado a exposição das silagens ao ar durante da transferência de silagens entre propriedades. No Brasil, a transferência de silagens entre silos tem sido denominada de reensilagem e, na maioria das vezes, tem sido realizada em período de um a dois dias quando a silagem fica exposta ao ar.

A falta de chuvas durante a estação chuvosa, as falhas durante o processo de ensilagem (Michel et al., 2016) e as limitações territoriais e climáticas de algumas propriedades para a produção de volumosos, tem sido as principais razões para a transferência de silagens e, sua posterior, reensilagem. Nas condições brasileiras, a reensilagem tem surgido como alternativa para solucionar a escassez de volumosos em certas épocas do ano. Todavia, a reensilagem resulta na aeração das silagens e, desta forma, na multiplicação de microrganismos aeróbios. Esta multiplicação, dependendo da intensidade, pode resultar em aquecimento e perdas de matéria seca e de nutrientes solúveis das silagens expostas ao ar. Além disso, as mudanças na composição química e na qualidade das silagens expostas ao ar podem ocasionar a redução da aceitação destes materiais pelos animais.

Para as silagens de milho e sorgo reensiladas, Chen et al. (2014) e Michel et al. (2016), respectivamente, verificaram uma pequena redução da digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Já na alimentação animal, Gerlach et al. (2013) e Gerlach et al. (2014) verificaram que a exposição das silagens ao ar por diferentes tempos influenciou a ingestão e comportamento ingestivo de cabras. Diante disso, objetivou-se verificar se a reensilagem altera o comportamento ingestivo e/ou compromete o consumo e a digestibilidade dos componentes nutricionais em ovinos alimentados com as silagens de milho reensiladas.

## 2. Material e métodos

Este estudo recebeu a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob o número de protocolo 183/2013, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal.

### 2.1. Ensilagem

O híbrido de milho BRS 1060 foi cultivado Embrapa Milho e Sorgo, localizada no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19° 28'S, longitude 44° 15'W e altitude de 732m). No plantio da lavoura foram utilizados 400 kg de 08-28-16 (N:P:K) + 5% de Zn e na adubação de cobertura, que ocorreu 30 dias após o plantio, utilizou-se 100 kg de nitrogênio/hectare. Após 107 dias de plantio, foram coletadas amostras de plantas inteiras para determinação das frações colmo, folhas e espigas. Após este procedimento, colheu-se o restante das plantas que foram trituradas e ensiladas em tambores de 200 litros revestidos com sacos plásticos. Foram confeccionados 80 silos experimentais em tambores.

As plantas de milho utilizadas na confecção das silagens apresentaram um percentual de colmo, folhas e espigas de 31,93%, 16,06% e 52,01% respectivamente.

Este estudo foi realizado simulando a época do ano e o tempo médio de duração da transferência de silagens no Brasil.

Tabela 1. Temperatura ambiente observadas durante a realização da reensilagem

Dias da reensilagem	Horas do dia			T °C	T °C	T °C
	12:00	16:00	24:00	Máxima.	Mínima.	Média.
10/07/2013	19,7	25,8	18,2	26,6	12,9	19,12
11/07/2013	18,9	22,0	15,1	24,8	11,2	17,02
12/07/2013	19,7	24,3	16,6	25,4	10,3	17,72

Os dados de temperatura foram obtidos na estação meteorológica da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil

Após 56 dias de ensilagem, os tambores foram conduzidos para um galpão coberto e com piso de cimento. Neste local, os 80 tambores foram divididos em 4 grupos, de 20 tambores cada. Após a divisão, um grupo contendo 20 tambores de silagem permaneceu

fechado (controle). Já os demais grupos de tambores foram desensilados, formando um monte de silagem para cada grupo de 20 tambores (tratamento). Após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar, os materiais de cada um dos montes foram recolhidos e reensilados utilizando os mesmos procedimentos empregados na ensilagem.

Após 56 dias de reensilagem, os tambores contendo as silagens foram transportados para as dependências do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Neste local, estas silagens foram utilizadas para a realização do ensaio de comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade aparente em ovinos.

## 2.2. Ensaio de consumo e digestibilidade aparente

Foram utilizados 20 ovinos adultos, sem raça definida, castrados e com peso vivo médio de 37,8kg (+-7kg). Os animais foram vermifugados e alojados em gaiolas metabólicas individuais, confeccionadas em aço e com piso de ripado de madeira, nas dimensões de 1,50 x 0,80m. As gaiolas dispunham de bebedouro em aço inoxidável para água, cocho em polietileno para volumoso e cocho em polietileno para sal mineral. A água e o sal mineral foram fornecidos *ad libitum* aos animais. Os animais foram pesados no início e ao final do estudo.

Os animais passaram por um período de 21 dias de adaptação as gaiolas, ao ambiente e a dieta. Após este período, durante cinco dias seguidos, foram mensuradas e amostradas as fezes, a urina, as silagens oferecidas e as sobras de silagens. Os animais foram alimentados às 8:00 horas e às 17:00 horas, de forma a proporcionar 150 g/kg de sobras por animal por dia. Em cada horário de alimentação foi realizada a amostragem do material a ser fornecido aos animais. Estas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas.

As silagens oferecidas foram analisadas quanto ao tamanho de partícula pelo método *Penn State Particle Size Separator* (Heinrichs e Jones, 2013).

Pela manhã, antes da alimentação dos animais, as sobras de silagens de cada animal foram recolhidas, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas. Após a alimentação dos animais, todas as fezes presentes nas caixas coletoras foram recolhidas, identificadas, pesadas e congeladas. A urina foi coletada com auxílio de funis, que a conduzia para baldes contendo 100 ml de ácido clorídrico 2N. Diariamente, pela manhã, era mensurada e retirada uma alíquota de 10% da urina presente em cada balde. As alíquotas

coletadas foram acondicionadas em garrafas de polietileno e congeladas para posteriormente serem analisadas.

As amostras das fezes, das silagens fornecidas e das sobras de silagens, coletadas diariamente, foram descongeladas por um período de 12 horas. Após este processo, as amostras foram utilizadas para a confecção de amostras compostas. Estas foram conduzidas a estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas para determinação da matéria pré-seca. Realizada a pré-secagem, as amostras foram moídas em moinho estacionário tipo “Thomas-Wiley”, modelo quatro, utilizando-se peneira de um mm. Já as amostras de urina foram descongeladas somente no momento de sua análise.

### 2.3. Análises laboratoriais e determinação das variáveis

O conteúdo de matéria seca foi determinado em estufa a 105°C [Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990; method ID 934.01]. O conteúdo de proteína bruta (PB) foi mensurado através da determinação da concentração de N total, pelo método Kjeldahl (AOAC 1990; method ID 990.03), onde PB foi calculada como o valor de N x 6.25. A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e a lignina em detergente ácido (LDA) foram determinadas pelo método seqüencial, de acordo com Van Soest et al. (1991). Na análise da FDN foi utilizado a  $\alpha$ -amilase termoestável. Os resíduos das análises de FDN e FDA foram analisados quanto aos conteúdos de cinzas e proteínas para a determinação dos valores de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e fibra insolúvel em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína (FDAcp). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados por meio da equação proposta pelo NRC (2001),  $CNF = 100 (\%FDNcp + \%PB + \%EE + \%Cinzas)$ . O EE foi determinado pelo processo Soxlet (AOAC, 1995). O nitrogênio urinário foi determinado pelo método Kjeldahl (AOAC 1990; method ID 990.03). Já a digestibilidade total da fibra insolúvel em detergente neutro (DTFDN) em % da FDN, foi determinada pela técnica near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) padronizada pelo método Combs-Goeser (2013).

O consumo de nutrientes foi determinado em gramas por unidade de tamanho metabólico por dia (g/UTM/dia). Já os valores de digestibilidade aparente foram obtidos através da fórmula proposta por Maynard et al. (1984). O balanço aparente de nitrogênio foi determinado pelas seguintes equações:  $N_{ingerido} = N_{ofertado} - N_{sobras}$ ;  $N_{absorvido} = N_{ingerido} - N_{fezes}$ ;  $N_{retido} = N_{ingerido} - (N_{fezes} + N_{urina})$ , expresso em g/dia por unidade de tamanho metabólico.

Tabela 2. Composição química, qualidade e tamanho de partículas das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempo de exposição ao ar (h)			
	0	12	24	48
Matéria seca (g/kg)	355,00	365,60	365,00	369,40
<i>Composição química</i>				
Cinzas (g/kg MS)	31,10	34,78	35,36	35,95
Extrato etéreo (g/kg MS)	42,50	39,20	40,10	38,00
Proteína bruta (g/kg MS)	79,40	81,30	79,20	79,50
Fibra insolúvel em detergente neutro <sup>a</sup> (g/kg MS)	389,30	410,10	420,40	429,00
Fibra insolúvel em detergente ácido <sup>a</sup> (g/kg MS)	221,10	235,90	247,70	240,70
Carboidratos não fibrosos (g/kg MS)	457,76	434,71	425,02	417,64
Lignina (g/kg MS)	9,40	12,3	9,20	11,8
DTFDN <sup>b</sup> (g/kg FDN)	283,70	251,80	291,50	267,60
<i>Qualidade da silagem</i>				
pH	3,61	3,63	3,65	3,64
N-NH <sub>3</sub> /NT	1,27	1,15	1,17	1,10
Ácido láctico (g/kgMS)	90,0	94,7	84,8	94,4
Ácido acético (g/kgMS)	16,1	16,9	17,7	16,3
Ácido propiônico (g/kgMS)	3,95	4,19	4,58	4,50
<i>Tamanho de partículas</i>				
> 19 mm (%)	40,0	40,0	30,0	40,0
> 8 mm (%)	440,0	430,0	460,0	460,0
> 4 mm (%)	510,0	510,0	480,0	460,0
Fundo (%)	20,0	30,0	30,0	40,0

<sup>a</sup>corrigida para cinzas e proteínas; <sup>b</sup>digestibilidade total da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) em relação a porcentagem de FDN.

#### 2.4. Avaliação do comportamento ingestivo

O ensaio de comportamento ingestivo foi realizado no dia seguinte ao término do ensaio de consumo e digestibilidade. Para a avaliação do comportamento ingestivo foram

mantidas todas as condições de alimentação e de manejo realizadas durante o ensaio de consumo e digestibilidade.

O ensaio de comportamento ingestivo foi realizado em dois dias consecutivos. No primeiro dia, os animais foram avaliados visualmente de cinco em cinco minutos durante 24 horas, totalizando 288 observações. Neste período, as avaliações consistiam em verificar se o animal estava ingerindo alimento, ruminando, em ócio ou realizando outra atividade. Durante as avaliações os animais foram mantidos sob iluminação artificial.

No segundo dia de avaliação do comportamento ingestivo, foram realizadas três avaliações dos números de mastigações merícias por bolo ruminal entre os períodos de 10:00 às 12:00 horas; 17:00 às 19:00 horas; e 21:00 às 23:00 horas (h), em um total de nove avaliações.

As variáveis de comportamento alimentar dos ovinos foram obtidas de acordo com Bürger et al. (2000). Já o número de mastigações por bolos ruminal e o tempo gasto ruminando para cada bolo ruminal foram determinadas de acordo com Polli et al. (1995).

### *2.5. Análises estatísticas*

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente ao acaso, com o grupo controle (0) e três tempos de reensilagem (12, 24 e 48 horas de exposição ao ar) e 5 repetições (carneiros). Para a análise dos resultados foi utilizado o procedimento “GLM” do SAS® de acordo com o seguinte modelo:  $Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$ , em que:  $Y_{ij}$  = valor referente à observação do tempo de reensilagem  $j$  na repetição  $i$ ;  $\mu$  = média geral;  $T_j$  = efeito do tempo de reensilagem  $j$  ( $j = 1, 2, 3, 4$ );  $e_{ij}$  = erro aleatório associado à observação. As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ . De acordo com as necessidades, foram realizadas correlações de Pearson entre as variáveis estudadas.

## **3. Resultados**

A variáveis relacionadas ao comportamento ingestivo dos ovinos não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes tempos de reensilagem (Tabela 3).

Assim como para o comportamento ingestivo, o consumo de matéria seca e seus componentes nutricionais, também não sofreram interferência ( $P > 0,05$ ) dos diferentes tempos de reensilagem (Tabela 4).

Tabela 3. Comportamento ingestivo em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
	0	12	24	48		
Alimentando (h/dia)	4,28	4,90	3,83	4,66	0,51	0,42
Ruminando (h/dia)	8,71	9,98	9,95	10,50	0,70	0,35
Ócio (h/dia)	10,15	8,13	9,18	8,18	0,94	0,40
Outra atividade (h/dia)	0,83	1,00	1,00	0,65	0,28	0,70
Tempo de mastigação total (h/dia)	13,00	14,88	13,78	15,16	0,81	0,24
Eficiência de alimentação (gMS/h)	270,41	225,72	306,71	233,16	41,11	0,50
Eficiência de alimentação (gFDN/h)	96,91	85,75	118,47	89,95	16,25	0,50
Eficiência de ruminação (gMS/h)	133,80	105,39	102,73	100,71	12,59	0,24
Eficiência de ruminação (gFDN/h)	47,76	39,76	39,84	38,92	4,90	0,55
Número de mastigações merícicas por bolos ruminais	65,13	75,15	69,80	81,13	6,76	0,41
Tempo de mastigações merícicas por bolos ruminais	46,76	50,40	43,54	53,27	3,22	0,11
Número de bolos ruminais por dia	679,10	719,32	836,60	726,33	6,70	0,41

<sup>a</sup>erro padrão da média ; <sup>b</sup>significância.

Não foi observada influência dos tempos de reensilagem em relação à digestibilidade aparente das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar (Tabela 5; P>0,05). Contudo, independente do tratamento avaliado, foi verificada uma baixa digestibilidade para a fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas (Tabela 5).

Tabela 4. Consumo dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>b</sup>	P <sup>c</sup>
	0	12	24	48		
Matéria seca (g/UTM/dia)	72,05	70,12	66,82	67,94	3,50	0,72
Matéria seca digestívelm (g/UTM/dia)	43,63	39,94	38,80	39,35	2,15	0,39
Matéria orgânica (g/UTM/dia)	69,63	67,48	64,23	65,19	3,39	0,68
Cinzas (g/UTM/dia)	2,41	2,64	2,58	2,77	0,10	0,24
Extrato etéreo (g/UTM/dia)	2,91	2,63	2,59	2,36	0,16	0,17
Proteína bruta (g/UTM/dia)	5,76	5,77	5,30	5,46	0,25	0,50
Proteína bruta digestível (g/UTM/dia)	3,03	2,92	2,57	2,68	0,15	0,17
Carboidratos não fibrosos (g/UTM/dia)	35,17	32,60	30,37	31,18	1,54	0,17
Fibra insolúvel em detergente neutro <sup>a</sup> (g/UTM/dia)	25,77	26,47	25,96	29,17	1,58	0,99
Fibra insolúvel detergente neutro digestível <sup>a</sup> (g/UTM/dia)	8,36	7,39	7,42	7,66	0,64	0,35
Fibra insolúvel em detergente ácido <sup>a</sup> (g/UTM/dia)	14,47	15,48	15,66	14,72	0,91	0,75
Fibra insolúvel detergente ácido digestível <sup>a</sup> (g/UTM/dia)	3,48	3,96	3,99	3,21	0,36	0,30
Lignina (g/UTM/dia)	0,49	0,74	0,46	0,56	0,08	0,10

<sup>a</sup>corrigida para cinzas e proteína; <sup>b</sup>erro padrão da média; <sup>c</sup>significância.

A ingestão de nitrogênio (N), a excreção de N pelas fezes e urina, o N absorvido e o N retido, assim como o balanço aparente de N em ovinos, não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os diferentes tempos de reensilagem (Tabela 6). O nitrogênio excretado nas fezes foi alto, enquanto o N excretado na urina foi baixo. Contudo, os animais de todos os tratamentos apresentaram balanço de N positivo.

Tabela 5. Digestibilidade dos componentes nutricionais das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>b</sup>	P <sup>c</sup>
	0	12	24	48		
Matéria seca (%)	60,71	59,95	58,05	57,92	0,01	0,19
Matéria orgânica (%)	65,24	62,19	62,68	61,61	0,01	0,22
Extrato etéreo (%)	85,73	82,40	85,03	79,15	0,18	0,10
Proteína bruta (%)	52,69	50,70	48,69	48,86	0,01	0,31
Carboidratos não fibrosos (%)	80,89	79,80	82,85	82,22	0,01	0,61
Fibra insolúvel em detergente neutro <sup>a</sup> (%)	32,44	28,24	28,75	29,19	0,01	0,10
Fibra insolúvel em detergente ácido <sup>a</sup> (%)	24,02	26,07	25,51	21,76	0,02	0,48

<sup>a</sup>corrigida para cinzas e proteínas; <sup>b</sup>erro padrão da média; <sup>c</sup>significância.

Tabela 6 – Ingestão, excreção e balanço de nitrogênio em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
	0	12	24	48		
Nitrogênio ingerido (g/dia)	14,17	13,99	12,99	13,36	1,29	0,91
Nitrogênio fecal (g/dia)	6,69	6,91	6,70	6,75	0,67	0,99
Nitrogênio urinário (g/dia)	1,70	1,30	2,00	1,65	0,28	0,42
Nitrogênio absorvido (g/dia)	7,48	7,06	6,28	6,60	0,69	0,65
Nitrogênio retido (g/dia)	5,77	5,75	4,28	4,94	0,67	0,37
Nitrogênio retido (% do N absorvido)	76,90	81,22	67,80	73,86	0,04	0,23
Nitrogênio retido (% do N ingerido)	40,50	41,31	33,18	36,17	0,02	0,19
Nitrogênio retido (g/UTM/dia)	0,37	0,38	0,28	0,31	0,03	0,15

<sup>a</sup>erro padrão da média; <sup>b</sup>significância.

#### 4. Discussão

Os diferentes tempos de reensilagem não comprometeram ( $P>0,05$ ) o comportamento ingestivo, o consumo, a digestibilidade e o balanço de nitrogênio dos ovinos alimentados com as silagens reensiladas.

No silo, as condições de baixo pH e anaerobiose inibem o metabolismo microbiano o que preserva o material ensilado. Entretanto, durante a transferência das silagens o ar estará presente (Chen et al., 2014).

A presença do oxigênio faz com que os microrganismos presentes nas silagens se multipliquem, consumindo os nutrientes solúveis e produzindo calor (Borreani, et al., 2007; Ranjit et al., 2000). Este processo denominado de deterioração aeróbia das silagens pode resultar em alteração do comportamento ingestivo (CI) e na diminuição do consumo e da digestibilidade aparente da dieta dos materiais expostos ao ar.

Uma série de fatores, em especial o conteúdo de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e a forma física da dieta, pode comprometer a ingestão de alimentos, causando um efeito direto sobre o CI dos ruminantes (Bastos et al., 2014).

O aumento do tamanho de partículas e dos conteúdos de FDN de origem forrageira na dieta aumenta os tempos desprendidos pelos animais para atividade de mastigação. Este aumento, por sua vez, resulta em maiores tempos de ruminação e alimentação. Portanto, o aumento do conteúdo de fibra da dieta pode limitar a ingestão de alimentos devido ao aumento no tempo de ruminação e alimentação (Lu et al., 2013).

Neste estudo, a correlação entre o consumo de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (CFDNcp) (Tabela 4) e o tempo de ruminação (TRU) (Tabela 3) foi alta ( $r_{CFDNcp \times TRU} = 0,52$ ;  $P<0,05$ ). Por isso, se houvesse alguma diferença significativa nos conteúdos de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), as variáveis relacionadas ao CI possivelmente poderiam ser alteradas. No entanto, não foi verificada nenhuma alteração ( $P>0,05$ ) para os tempos de alimentação, mastigação, ruminação, eficiência de ruminação e demais variáveis relacionadas ao CI dos animais (Tabela 3). Esta ausência de influência dos diferentes tempos de reensilagem ( $P>0,05$ ) sobre o CI (Tabela 3) pode ser atribuída, em partes, à manutenção da composição química e a grande similaridade do tamanho das partículas das silagens avaliadas (Tabela 2).

O termo “em partes” foi utilizado por que a qualidade da silagem também pode interferir na ingestão e, desta forma, no CI dos animais. A ingestão de alimentos pelos

animais é determinada pelo tamanho das refeições e pelo número de refeições diárias (Dulphy e Os, 1996). Na alimentação de vacas leiteiras, Wichirt et al. (1998) verificaram que a redução da qualidade das silagens resultou em uma maior frequência de alimentação, porém, em um menor consumo de matéria seca (CMS). Sendo assim, a ausência de alterações no CI dos ovinos (Tabela 3) pode ser atribuída à manutenção qualidade e da composição química e, também, pela grande similaridade no tamanho de partículas das silagens avaliadas (Tabela 2).

Em silagens de milho e sorgo, Chen et al. (2014) e Michel et al. (2016), respectivamente, reportaram a influência ( $P < 0,05$ ) da exposição das silagens ao ar e a sua reensilagem sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (MS). Entretanto, no presente trabalho, não foi verificada nenhuma alteração ( $P > 0,05$ ) na composição química e na qualidade das silagens avaliadas (Tabela 2). Desta forma, assim como para o comportamento ingestivo (Tabela 3), a manutenção do CMS e de seus constituintes (Tabela 4;  $P > 0,05$ ), bem como da DA (Tabela 5;  $P > 0,05$ ), podem ser atribuídas à ausência de alterações na qualidade e na composição química das silagens avaliadas (Tabela 2).

Os CMS (Tabela 4) estão entre 60,0 a 80,0 g UTM/dia que é o recomendado pelo NRC (2007) para ovinos adultos em manutenção, enquanto as concentrações de PB das silagens avaliadas foram superiores aos 6,0 a 8,0% recomendados por Van Soest (1994) como mínimo necessário para adequado funcionamento ruminal (Tabela 2).

Todas as silagens apresentaram alta digestibilidade da MS e matéria orgânica (MO), com valores médios de 591,5 g/kg e 629,3 g/kg, respectivamente (Tabela 5). Já os valores de digestibilidade da FDNcp foram de 296,5 g/kg (Tabela 5). Para as silagens de milho brasileiras, Oliveira et al. (2017) verificaram que a digestibilidade *in vitro* da FDN variou de 249,0 g/kg a 606,0 g/kg, com média de 407,0 g/kg. Logo, como base nas silagens brasileiras, é possível verificar que os valores de DA da FDNcp foram baixos (Tabela 5).

A menor digestibilidade da FDNcp (Tabela 5) esta relacionada a baixa qualidade da FDNcp. Isto pode ser verificado pela proximidade entre os valores DA da FDNcp (Tabela 5) e de digestibilidade total da fibra insolúvel em detergente neutro (DTFDN) determinada pela técnica near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) padronizada pelo método Combs-Goeser (2013) (Tabela 2).

Como a fibra compõe uma grande fração dos volumosos, os menores valores de digestibilidade da FDNcp (Tabela 5) poderia resultar em menor digestibilidade da MO (Tabela 5). Entretanto, isto não ocorreu devido alta concentração de espigas no material

ensilado (52,01%), que elevaram os conteúdos de amido e, conseqüentemente, reduzem os conteúdos de FDNcp do material ensilado (Tabela 2). De acordo com Martin et al. (2008), na silagem de milho, a concentração de amido contribui com 500 a 700 g/kg da digestibilidade da MO. Por isso, pode-se inferir que a redução da digestibilidade da FDNcp foi compensada pelas maiores concentrações de amido e maiores valores de digestibilidade das frações não fibrosas (Tabela 5).

Independentemente do tratamento testado, o balanço aparente de N foi positivo, com os valores médios de 37,79 g/kg (Tabela 6). Foi verificada uma alta retenção do N absorvido e uma baixa excreção de N pela urina (Tabela 6). Estas variáveis evidenciam a eficiência de síntese de proteína microbiana ruminal (ESPM) foi alta. Esta alta eficiência resulta em maior aproveitamento do nitrogênio disponível no rumem para síntese de proteína microbiana e em menor perda de N pela urina. Embora muitos fatores possam afetar a ESPM, as prováveis e principais razões para os maiores valores verificados para as silagens de milho, relacionam-se com a abundância de carboidratos fermentáveis na forma de amido (Givens et al., 2004). Por isso, a maior participação de espigas no material ensilado (52,01%), além de aumentar o conteúdo energético das silagens de milho pode ter reduzido a excreção de N pela urina.

Em relação ao N ingerido, os valores de N perdidos nas fezes foram em média 49,70g/kg por animal por dia (Tabela 6). Em ovinos alimentados com silagens de milho, Sohail et al. (2010) e Gorniak et al. (2014) verificaram que em relação ao nitrogênio ingerido, a excreção de N nas fezes foi em média de 330,0 g/kg e 284,0 g/kg, respectivamente. Logo, é possível verificar que as perdas de nitrogênio pelas fezes foram relativamente altas (Tabela 6).

Neste estudo, o possível efeito do amido na excreção de N pode ser verificado pela alta participação de espigas no material ensilado (52,01%) e pela alta correlação entre a ingestão de carboidratos não fibrosos (Tabela 4) e a excreção de N por meio das fezes ( $r^{=0,56}$ ;  $P<0,05$ ). Portanto, a alta proporção de grãos no material ensilado pode ter contribuído para o aumento da atividade fermentativa no intestino grosso e, conseqüentemente, para maior excreção de N pelas fezes (Tabela 6).

É importante ressaltar que os altos conteúdos de amido nas silagens são desejáveis, e para evitar que estes carboidratos sejam fermentados no ceco e perdidos nas fezes como proteína microbiana, deve-se adequar os conteúdos de nitrogênio da dieta com a disponibilidade de matéria orgânica fermentável no rumem. Os conteúdos de proteína (Tabela 2) das silagens avaliadas estavam próximos a 70 g/kg, que de acordo com Soliva et

al. (2015), é o mínimo requerido para a manutenção da atividade dos microrganismos ruminais. Entretanto, o alto conteúdo grãos e os baixos conteúdos de N presentes nas silagens (52,01%), podem ter proporcionado uma insuficiente taxa de crescimento dos microrganismos ruminais para transformar os carboidratos fermentáveis em produtos da fermentação ruminal. Diante disso, estes carboidratos podem escapar da fermentação ruminal e serem fermentados no ceco, com consequentemente produção de proteína cecal.

A ausência de alterações ( $P>0,05$ ) em todas as variáveis analisadas (Tabela 3; Tabela 4; tabela 5; Tabela 6) podem ser atribuídas à manutenção da composição química e da qualidade das silagens após os seus diferentes tempos de exposição ao ar. A manutenção da qualidade e da composição química das silagens (Tabela 2) ocorreu em decorrência do tempo de exposição e da temperatura do local durante a reensilagem, aliado a aplicação das boas práticas de ensilagem.

Durante a desensilagem e a reensilagem dos materiais, as temperaturas do ambiente oscilaram entre 9,1 a 28,9°C, com média de 18,5°C (Tabela 1). De acordo com Koc et al. (2009), as silagens são mais propensas a deterioração aeróbia em temperaturas próximas a 30°C. Já em relação ao binômio tempo e temperatura, em silagens de milho, Asbheill et al. (2002) só verificaram alteração da qualidade quando as silagens foram expostas ao ar por três dias em temperatura constante de 30°C e por seis dias em temperatura constante de 20°C. Desta forma, para que a qualidade das silagens avaliadas neste estudo fosse alterada, era preciso um maior tempo e/ou uma maior temperatura ambiente. Entretanto, é importante ressaltar que estes maiores valores de temperatura e tempo de exposição não condizem com a maioria com as situações práticas verificadas na época em que ocorre a maioria das transferências de silagens no Brasil central.

De acordo com Dos Anjos et al. (2018), para minimizar os riscos de perdas do material a ser reensilado, é importante que os aspectos relacionados a qualidade das silagens sejam considerados. Neste sentido, Chen et al. (2014) ressalta que a transferência de silagens e a sua reensilagem dependem, em menor grau, do tempo de exposição ao ar e, em maior grau, do perfil de fermentação e da população de fungos e leveduras.

Ao analisar o perfil de fermentação (Tabela 2) é possível verificar que todas as silagens apresentaram boa qualidade. Desta forma, as condições de tempo de exposição e temperatura ambiente podem, juntamente com a boa qualidade das silagens, terem contribuído diretamente para ausência de alteração nas variáveis analisadas.

Com base neste estudo, a reensilagem pode ser empregada. Todavia, este resultado não pode ser extrapolado para qualquer local ou região sem nenhum critério. Isto por que as condições relacionadas ao tempo de exposição ao ar, temperatura ambiente e qualidade das silagens podem apresentar uma grande variação, principalmente no Brasil, onde a extensão territorial e condições climáticas são muito variáveis. Portanto, para que a reensilagem possam ser realizadas, as condições de tempo de exposição ao ar, temperatura ambiente e qualidade dos materiais devem ser criteriosamente avaliadas e consideradas.

É importante ressaltar que este estudo foi realizado em uma época na qual a reensilagem é muito empregada, o que possibilitou simular as condições de temperatura ambiente e tempo de exposição ao ar utilizado pelos produtores rurais na reensilagem.

## **5. Conclusão**

A exposição das silagens ao ar em condições de temperatura ambiente na qual a reensilagem é frequentemente realizada não influenciou os parâmetros de comportamento ingestivo, a ingestão e a digestibilidade das silagens de milho reensiladas.

## **Agradecimentos**

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil; a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); a Escola de Veterinária da Universidade Federal Minas Gerais (EV-UFMG) e a Pró-reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPq-UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, pelo seu apoio e assistência.

## **6. Referências bibliográficas**

ASHBEILL, G.; WEINBERG, Z. G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v.28, p.261-263, 2002.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official methods of analysis of AOAC International. 15th ed. AOAC International. Arlington, VA.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1995. Official methods of analysis. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1025p.

BASTOS, M. P. V.; CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, R. R.; FILHO, A. E.; SANTOS, E. J.; CHAGAS, D. M. T.; BARROSO, D. S.; FILHO, J.A. Ingestive behavior and nitrogen balance of confined santa Inês lambs fed diets containing soybean hulls. *Asian. Australas. Journal Animal Science*, v.27, p.24-29, 2014.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A New Oxygen Barrier Film Reduces Aerobic Deterioration in Farm-Scale Corn Silage. *Journal Dairy Science*, v.90, p.4701-4706, 2007.

BURGER, P. J.; PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; SILVA, J. F. C.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; CASALI, A. D. P. Comportamento Ingestivo em Bezerros Holandeses Alimentados com Dietas Contendo Diferentes Níveis de Concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, p.236-242, 2000.

CHEN, Y.; WEINBERG, Z, G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silage on their quality. *Journal Dairy Science*, v.97, p. 406-410, 2014.

COMBS, D. K. TTNDFD: A new approach to evaluate forages. *Cornell Nutrition Conf. Department Animal Science, University Cornell, Ithaca, NY*, 2013.

DOS ANJOS, G. V. S.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; COELHO, M. M. MICHEL, P. H. F.; OTTONI, D.; JAYME D. G. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *Journal Dairy Science*, v.101, p.1-8, 2018.

DULPHY, J. P. AND OS, M.V. Control of voluntary intake of precision-chopped silages by ruminants: a review. *Reproduction Nutrition Developmet*, v.36, p.113-135, 1996.

ERICKSON, P. S.; WHITE HOUSE, N. L.; SPANGLER, D. A. Adding a bacterial inoculant to corn silage removed from a bunker silo and stored in piles. *Case Study. Animal Science*, v.28, p244-247, 2012.

GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K.; BÜSCHER, W.; SÜDEKUM, K. H. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agricultural Food Science*, v.22, p.168-181, 2013.

GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K.; BÜSCHER, W.; SÜDEKUM, K. H. Aerobic exposure of Grass silages and its impact on dry matter intake and preference by goats. *Small Ruminant Research*, v.117, p.131-141, 2014.

GIVENS, D.I.; RULQUIN, H. Utilisation by ruminants of nitrogen compounds in silage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, v.114, p.1-18, 2004.

GORNIAK, T.; MEYER, U.; SÜDEKUM, K.; DÄNICKE, S. Effect of ambient temperature on nutrient digestibility and nitrogen balance in sheep fed brown-midrib maize silage. *Archivos. Animal Nutrition*, v.68, p.336-344, 2014.

HEINRICHS, J.; JONES, C.M. The Penn State Particle Separator. *DSE*, p.186, 2013.

KOC, F.; COSKUNTUNA, L.; OZDUVEN, M.L. The effects of temperature on the silage microbiology and aerobic stability of corn and vetch-grain silages. *Acta Agriculturae Scandinavica Secton A – Animal Science*, v.59, p.39 -246, 2009.

LU, C.D.; KAWAS, J.R.; MAHGOUB, O.G. Fibre digestion and utilization in goats. *Small Ruminant Research*, v.60, p.45–52, 2005.

MAYNARD, L.A.; LOOSLI, B.S.; HINTZ, H.F. *Nutrição animal*. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984, 726p.

MARTIN, N. P.; MERTENS, D. R.; HALL, M. B.; LAUER, J. G. Fiber digestibility and starch content of corn silage. *Idaho Alfalfa and Forage Conference*. Idaho. University of Idaho, 2008.

MICHEL, P. H. F.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; RAPOSO, V. S.; LIMA, E. M.; SANTOS, F. P. C.; JAYME, D. G. Re-ensiling and inoculants application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionicum* sorghum silages. Grass Forage Science, v.72, p.432–440, 2016.

NRC-National Research Council. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and New World camelids. National Academy Science, Washington, DC, USA, 2007, 362p.

NRC-National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 7. ed. Washington: National Academy Press, 2001, 405p.

OLIVEIRA, I. L.; LIMA, L. M.; CASAGRANDE, D. R.; LARA, M. A. S.; BERNARDES, T. F. Nutritive value of corn silage from intensive dairy farms in Brazil. Revista Brasileira de Zootecnia, v.46, p.494-501, 2017.

OSHITA, T.; TAKAYAMA, H.; OTSUKA, H.; IGARASHI, H.; NONAKA, K.; KUME, S. Effects of Maturing Stage of Corn Hybrids on Silage Yield, Feeding Value for Dairy Cows and Milk Production in a Cold Region of Japan. Asian. Australas. Journal Animal Science, v.20, p.511-516, 2007.

POLLI, V. A.; RESTLE, J.; SENNA, D. B. Comportamento de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. Ciência Rural, v.25, p.127-131, 1995.

RANJIT, N. K.; KUNG, J. R. L. The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. Journal Dairy Science, v.83, p.526–535, 2000.

SOHAIL, H. K.; MUHAMMAD, A. S.; MAHER, N.; MUHAMMAD S. Nutrients intake, digestibility, nitrogen balance and growth performance of sheep fed different silages with or without concentrate. Tropical Animal Health Prod, v. 43, p.795–801, 2010.

SOLIVA, C. R.; AMELCHANKA, S. L.; KREUZER, M. The requirements for rumen-degradable protein per unit of fermentable organic matter differ between fibrous feed sources. *Frontiers in Microbiology*, v. 6, p.715, 2015.

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

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

WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G. Changes in gas composition in corn silages in bunker silos during storage and feed out. *Canadian Agricultural Engineering*, v.36, p.155–158, 1994.

WICHIRTI, B.; KIENZLE, E.; BAUIK, J. Palatability and intake of silage in dairy cows, in relation to hygienic quality. *Journal Animal Physiology Animal Nutrition*, v.80, p.253-259, 1998.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effect of soya silage. *Journal of Applied Microbiology*, v.68, p.101-116, 1990.

## CAPÍTULO VI

### **Partição da energia e produção de metano em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar**

#### **Resumo**

No Brasil, a reensilagem tem surgido como uma alternativa para solucionar a escassez periódica de volumosos. No entanto, tal prática predispõe às silagens reensiladas a deterioração aeróbia. Com isso, objetivou verificar se reensilagem pode influenciar a partição de energia e a produção de metano (CH<sub>4</sub>) em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar. Foram confeccionados 80 silos e parte deles foram reensilados nos tempos de 12, 24 e 48 de exposição ao ar. Após 56 dias de reensilagem, os silos foram abertos e utilizados para a realização do ensaio de partição de energia e produção de CH<sub>4</sub> em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas. Para este ensaio foram utilizados 20 ovinos adultos, com peso médio de 37,8 (+-7) kg. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais para a determinação dos valores de energia e CH<sub>4</sub>. Cada animal passou foi avaliado em câmara respirométrica, tanto em estado alimentado quanto em jejum pós-absortivo. Os valores de energia digestível (ED) foram em média 181,97 kcal/UTM/dia, enquanto os valores de energia metabolizável (EM) foram em média 147,99 Kcal/UTM/dia. A energia perdida na forma de CH<sub>4</sub> em percentagem da energia bruta ingerida foi em média de 6,58%. Não foi verificada interferência dos diferentes tempos de reensilagem (P>0,05) para as variáveis estudadas. Portanto, a partição de energia e a produção de CH<sub>4</sub> não foram influenciadas pelos diferentes tempos de reensilagem.

**Palavras-chave:** desensilagem, energia digestível, energia metabolizável, perdas aeróbias, valor nutritivo.

#### **1. Introdução**

O sucesso na produção de silagens consiste na máxima preservação do material ensilado por meio da manutenção das condições de anaerobiose e do baixo pH no silo (Driehuis et al., 2000). Porém, no Brasil, tais condições têm sido negligenciadas pela exposição das silagens ao ar durante a comercialização destes materiais entre produtores rurais, em um processo denominado de reensilagem.

Para que a comercialização de silagens ocorra, a forragem ensilada deve ser desensilada e transportada para outro local, onde será compactada e ensilada novamente (Dos Anjos et al., 2018). Em seus trabalhos, Chen et al. (2014), Lima et al. (2014), Michel et al. (2014), Dos Anjos et al. (2018) relatam que os tempos de exposição das silagens ao ar antes de sua reensilagem variam de 12 a 48 horas.

A presença do oxigênio em contato com a silagem faz com que os microrganismos aeróbios se tornem ativos, consumindo inicialmente os substratos solúveis e depois os compostos mais complexos (Borreani et al., 2018), em um processo denominado de deterioração aeróbia das silagens.

A deterioração aeróbia das silagens resulta em alteração na sua composição química e, desta forma, nos seus conteúdos de energia. Na alimentação de ruminantes, Bolsen et al. (2000) verificaram que a presença de silagens deterioradas na dieta de ruminantes resultou em uma alteração na integridade do “*mat*” ruminal, no consumo e na digestibilidade da dieta. Portanto, a exposição das silagens ao ar devido a reensilagem pode comprometer os seus conteúdos de energia devido a sua interferência na composição química dos materiais e/ou alteração no metabolismo ruminal.

A concentração de energia da dieta e o consumo de matéria seca têm sido os melhores preditores da produção de gás CH<sub>4</sub> entérico pelos ruminantes (Moss et al., 1995; Zhao et al., 2016). Por isso, os dados de emissão CH<sub>4</sub> podem ser combinados com informações dos processos metabólicos de digestão para fornecer informações valiosas sobre a eficiência dos sistemas pecuários (Hill et al. (2016).

Tendo em vista o recurso alimentar que a reensilagem tem apresentado para muitos pecuaristas, é necessário avaliar se esta técnica não compromete a partição de energia no organismo animal e/ou aumente a emissão de gás CH<sub>4</sub>. Portanto, objetivou-se determinar se os diferentes tempos de exposição das silagens ao ar e sua reensilagem podem interferir na partição de energia e na emissão de gás CH<sub>4</sub> em ovinos alimentados com as silagens reensiladas.

## **2. Material e métodos**

Este estudo recebeu a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob o número de protocolo 183/2013, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal.

## 2.1. Ensilagem

O híbrido de milho BRS 1060 foi cultivado Embrapa Milho e Sorgo, localizada no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19° 28'S, longitude 44° 15'W e altitude de 732m). No plantio da lavoura foram utilizados 400 kg de 08-28-16 (N:P:K) + 5% de Zn e na adubação de cobertura, que ocorreu 30 dias após o plantio, utilizou-se 100 kg de nitrogênio/hectare. Após 107 dias de plantio, foram coletadas amostras de plantas inteiras para determinação das frações colmo, folhas e espigas. Após este procedimento, colheu-se o restante das plantas que foram trituradas e ensiladas em tambores de 200 litros revestidos com sacos plásticos. Foram confeccionados 80 silos experimentais em tambores.

As plantas de milho utilizadas na confecção das silagens apresentaram um percentual de colmo, folhas e espigas de 31,93%, 16,06% e 52,01% respectivamente.

Este estudo foi realizado simulando a época do ano e o tempo médio de duração da transferência de silagens no Brasil.

Tabela 1. Temperatura ambiente observadas durante a realização da reensilagem

Dias da reensilagem	Horas do dia			T °C	T °C	T °C
	12:00	16:00	24:00	Máxima.	Mínima.	Média.
10/07/2013	19,7	25,8	18,2	26,6	12,9	19,12
11/07/2013	18,9	22,0	15,1	24,8	11,2	17,02
12/07/2013	19,7	24,3	16,6	25,4	10,3	17,72

Os dados de temperatura foram obtidos na estação meteorológica da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil

Após 56 dias de ensilagem, os tambores foram conduzidos para um galpão coberto e com piso de cimento. Neste local, os 80 tambores foram divididos em 4 grupos, de 20 tambores cada. Após a divisão, um grupo contendo 20 tambores de silagem permaneceu fechado (controle). Já os demais grupos de tambores foram desensilados, formando um monte de silagem para cada grupo de 20 tambores (tratamento). Após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar, os materiais de cada um dos montes foram recolhidos e reensilados utilizando os mesmos procedimentos empregados na ensilagem.

Após 56 dias de reensilagem, os tambores contendo as silagens foram transportados para as dependências do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da

Universidade Federal de Minas Gerais. Neste local, estas silagens foram utilizadas para a realização do ensaio de consumo e digestibilidade aparente, partição da energia e produção de CH<sub>4</sub> em ovinos.

## 2.2. Ensaio de consumo e digestibilidade aparente e respirometria

### 2.2.1. Consumo e digestibilidade aparente

Neste ensaio foram utilizados 20 ovinos adultos, sem raça definida, castrados e com peso vivo médio de 37,8kg (+-7kg). Os animais foram vermifugados e alojados em gaiolas metabólicas individuais, confeccionadas em aço e com piso de ripado de madeira, nas dimensões de 1.50 x 0.80m. As gaiolas dispunham de bebedouro em aço inoxidável para água, cocho em polietileno para volumoso e sal mineral. A água e o sal mineral foram fornecidos *ad libitum* aos animais. Os animais foram pesados no início e ao final do estudo.

Os animais passaram por um período de 21 dias de adaptação as gaiolas, ao ambiente e a dieta. Após este período, durante cinco dias seguidos, foram mensuradas e amostradas as fezes, a urina, as silagens oferecidas e as sobras de silagens. Os animais foram alimentados às 8:00 horas e às 17:00 horas, de forma a proporcionar 150 g/kg de sobras. Em cada horário de alimentação foi realizada a amostragem do material a ser fornecido aos animais. Estas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas.

Pela manhã, antes da alimentação dos animais, as sobras de silagens de cada animal foram recolhidas, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas. Após a alimentação dos animais, todas as fezes presentes nas caixas coletoras foram recolhidas, identificadas, pesadas e congeladas, para posterior análise. A urina foi coletada com auxílio de funis, que a conduzia para baldes contendo 100 ml de ácido clorídrico 2N.

As amostras de fezes, silagens fornecidas e sobras de silagens, coletadas diariamente, foram descongeladas, pré-secadas e moídas em moinho estacionário tipo “Thomas-Wiley”, modelo quatro, utilizando-se peneira de um milímetro.

Após o ensaio de consumo e digestibilidade aparente, os animais foram transferidos individualmente para a câmara respirométrica por um período de 24 horas, onde foram mensuradas as trocas gasosas com a finalidade de determinar a energia metabolizável (EM) e a produção de CH<sub>4</sub>.

### 2.2.2. *Respirometria*

A produção de CH<sub>4</sub> e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e o consumo de oxigênio (O<sub>2</sub>) de todos os carneiros foram determinadas durante 24 horas de acordo com Rodriguez et al. (2007). Para este estudo foi utilizado uma câmara respirométrica de fluxo aberto. Esta era confeccionada com placas de acrílico transparente (6 mm de espessura), com dimensões externas de 1,2 m (largura) x 2,0 m (altura) x 2,1 m (comprimento).

Durante o estudo de respirometria os animais foram alimentados com dieta experimental uma vez por dia, sendo que o consumo do alimento foi calculado pela diferença entre a quantidade oferecida e as sobras presente no cocho na manhã seguinte. O peso dos animais foi registrado no momento de entrada e saída destes da câmara. Para evitar o excesso de amônia por volatilização no interior da câmara, foi adicionado 100 mL de HCL 2N dentro do balde coletor de urina, situado abaixo da gaiola metabólica. Ao lado da câmara foi colocada outra gaiola com um carneiro. Este procedimento teve como finalidade evitar o estresse por isolamento e iniciar a adaptação dos animais ao novo ambiente.

Após o período de experimentação com os animais alimentados, todos os animais passaram novamente na câmara respirométrica por um período de 24 horas, porém, desta vez, em jejum alimentar prévio de 48 horas. Isso foi realizado para caracterizar o estado pós-absortivo, obtendo-se assim, os valores basais de produção de calor. Em todo o período de experimentação os animais tiveram acesso à água e a mistura mineral *ad libitum*.

### 2.3. *Análises laboratoriais e determinação das variáveis*

O conteúdo de matéria seca foi determinado em estufa a 105°C [Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990; method ID 934.01]. O conteúdo de proteína bruta (PB) foi mensurado através da determinação da concentração de N total, pelo método Kjeldahl (AOAC 1990; method ID 990.03), onde PB foi calculada como o valor de N x 6.25. A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e a lignina em detergente ácido (LDA) foram determinadas pelo método sequencial, de acordo com Van Soest et al. (1991). Na análise da FDN foi utilizado a  $\alpha$ -amilase termoestável. Os resíduos das análises de FDN e FDA foram analisados quanto aos conteúdos de cinzas e proteínas para a determinação dos valores de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN<sub>cp</sub>) e fibra insolúvel em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína (FDA<sub>cp</sub>). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados por meio da equação proposta pelo NRC (2001), CNF = 100 (%FDN<sub>cp</sub> + %PB + %EE + %Cinzas). O

EE foi determinado pelo processo Soxlet (AOAC, 1995). O nitrogênio urinário foi determinado pelo método Kjeldahl (AOAC 1990; method ID 990.03).

Os conteúdos de energia bruta (EB) foram determinados por combustão em bomba calorimétrica adiabática modelo PARR 2081, seguindo os procedimentos descritos em AOAC (2000).

O CMS e energia foram determinados em gramas por unidade de tamanho metabólico por dia (g UTM/dia).

A EM foi obtida por meio da seguinte fórmula:  $EM = EB - (E_{fezes} + E_{urina} + E_{CH_4})$ , em que: EM = teor de energia metabolizável Kcal/Kg de matéria seca (MS)); energia perdida na forma de fezes ( $E_{fezes}$ ), urina ( $E_{urina}$ ) e de gases ( $E_{CH_4}$ ).

Tabela 2. Composição química das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)			
	0	12	24	48
Energia bruta (kcal/gMS)	4,257	4,111	4,250	4,519
Matéria seca (g/Kg)	355,00	365,60	365,00	369,40
Proteína bruta (g/kg MS)	79,40	81,30	79,20	79,50
Fibra insolúvel em detergente neutro <sup>a</sup> (g/kg MS)	389,30	410,10	420,40	429,00
Fibra insolúvel em detergente ácido <sup>a</sup> (g/kg MS)	221,10	235,90	247,70	240,70
Carboidratos não fibrosos (g/kg MS)	457,76	434,71	425,02	417,64
Lignina (g/kg MS)	9,40	12,3	9,20	11,8

<sup>a</sup>corrigida para cinzas e proteína.

A concentração de O<sub>2</sub> foi determinada em analisador paramagnético PA-1B Oxygen Analyzer (Sable System Int., Las Vegas, NV). As concentrações de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foram mensuradas em analisadores de infra-vermelho (CA-2A Carbon Dioxide Analyzer e MA-1 Methane Analyzer, Sable System Int., Las Vegas, NV).

O consumo de O<sub>2</sub> e as produções de CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> foram calculados baseados no contraste entre a composição da entrada e a de saída do ar (Chwalibog, 2004). Na realização dos cálculos envolvendo a produção de CH<sub>4</sub> foram utilizados os fatores de 13,334 Kcal/grama e densidade de 0,7143 gramas/litro para valor o energético e para a densidade,

respectivamente. Para a transformação dos dados em calorias, utilizou-se como referência o valor de 1 joule correspondente a 0,239 calorias.

#### *2.4. Análises estatísticas*

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente ao acaso, com o grupo controle (0) e três tempos de reensilagem (12, 24 e 48 horas) e cinco repetições (carneiros). Para a análise dos resultados foi utilizado o procedimento “GLM” do SAS® de acordo com o seguinte modelo:  $Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$ , em que:  $Y_{ij}$  = valor referente à observação do tempo de reensilagem  $j$  na repetição  $i$ ;  $\mu$  = média geral;  $T_j$  = efeito do tempo de reensilagem  $j$  ( $j = 1, 2, 3, 4$ );  $e_{ij}$  = erro aleatório associado à observação. De acordo com as necessidades algumas variáveis passaram por uma transformação logarítmica antes de sua análise. As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ . De acordo com as necessidades, foram realizadas correlações de Pearson entre as variáveis estudadas.

### **3. Resultados**

O CMS, o consumo de matéria orgânica (CMO), o consumo de energia, a digestibilidade da energia, a metabolizabilidade ( $q_m$ ) e a relação entre a energia digestível (ED) e a EM não diferiu entre os tratamentos testados (Tabela 3;  $P > 0,05$ ).

Não foi verificada diferença ( $P > 0,05$ ) entre as perdas de energia em ovinos alimentados com as silagens reensiladas (Tabela 4).

As perdas de  $CH_4$  por animal por dia e as perdas de  $CH_4$  em relação a ED em ovinos não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes tempos de reensilagem (Tabela 5).

Tabela 3. Consumo, digestibilidade e balanço de energia em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
	0	12	24	48		
<i>Consumo</i>						
Matéria seca (g/UTM/dia)	72,05	70,12	66,82	67,94	3,50	0,72
Energia bruta (kcal/UTM/dia)	306,7	288,3	284,0	307,7	20,96	0,57
Energia digestível (kcal/UTM/dia)	194,2	173,3	170,6	189,6	8,28	0,15
Energia metabolizável (kcal/UTM/dia)	156,4	143,5	134,4	155,5	6,91	0,11
<i>Digestibilidade aparente</i>						
Materia orgânica (% MO)	65,24	62,19	62,68	61,61	0,01	0,22
Energia (% EB)	63,31	60,38	60,36	61,68	0,01	0,23
<i>Balanço de energia</i>						
Energia metabolizável (% CEB)	51,14	50,78	47,89	50,34	0,01	0,06
Energia metabolizável (% CED)	80,11	82,33	78,67	81,54	0,01	0,05

<sup>a</sup>erro padrão da média; <sup>b</sup>significância.

Tabela 4. Perdas diárias de energia em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
	0	12	24	48		
Fezes (kcal/UTM/dia)	112,45	114,97	113,38	118,05	8,473	0,96
Urina (kcal/UTM/dia)	19,0	10,97	15,60	15,45	2,037	0,08
Metano (kcal/UTM/dia)	18,78	18,79	20,60	18,70	1,859	0,86
Fezes (% CEB)	36,69	39,62	39,64	38,32	0,014	0,23
Urina (%CEB)	6,12	3,85	5,61	5,01	0,002	0,09
Metano (%CEB)	6,17	6,52	7,52	6,12	0,001	0,53

<sup>a</sup>erro padrão da média; <sup>b</sup>significância.

Tabela 5. Emissão de metano em ovinos alimentados com silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
	0	12	24	48		
Produção de metano (g/dia)	21,65	21,31	23,60	21,16	2,619	0,90
Rendimento de metano (g/kg MS)	19,73	20,11	22,80	20,74	1,730	0,61
Rendimento metano (g/kg FDN)	50,62	49,02	53,99	49,49	4,627	0,87
Rendimento de metano (g/kg ED)	0,090	0,10	0,11	0,099	0,003	0,35

<sup>a</sup>erro padrão da média; <sup>b</sup>significância.

#### 4. Discussão

Na avaliação de alimentos para nutrição de ruminantes, as relações entre as diferentes energias são realizadas para entender as suas perdas e utilização, sendo denominados balanços de energia. De forma conjunta são determinados os valores de CH<sub>4</sub>, que representam uma importante forma de perda de energia pelos animais e, além disso, é um gás de grande relevância para o aquecimento global.

Não houve diferença (P>0,05) no balanço de energia em ovinos alimentados com as silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar (Tabela 3). Esta constatação pode ser justificada pela grande similaridade na composição das silagens (Tabela 2) e pela ausência (P>0,05) de alteração no consumo e na digestibilidade aparente da energia (Tabela 3).

Todas as silagens avaliadas proporcionam um CMS (Tabela 3) entre 60,0 a 80,0 g UTM/dia, que é o recomendado pelo NRC (2007) para ovinos em manutenção.

Para as silagens de milho brasileiras, Oliveira et al. (2017) verificaram que os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) variaram de 489 a 700 g/kg. De acordo com Machado et al. (2015), o NDT pode ser considerado bastante semelhante a ED aparente, sendo esta, possivelmente, mais precisa, pois é a soma do calor de combustão dos verdadeiros nutrientes digestíveis (proteína, lipídios e carboidratos). Diante disso, ao relacionar os valores de NDT reportados por Oliveira et al. (2017) para as silagens brasileiras com os valores de Energia digestível observados (Tabela 3), é possível afirmar que todas as silagens estão de acordo com a média nacional, com um conteúdo médio de ED de 614,3 g/Kg.

A relação entre a EM e a EB é denominada de metabolizabilidade ( $q_m$  - *animais em manutenção*). Os aumentos nos conteúdos de fibra reduzem o  $q_m$  do alimento em questão

(Rezende et al., 2011). Diante disso, a ação dos microrganismos aeróbios ao consumir os nutrientes solúveis poderia ocasionar um aumento relativo dos conteúdos de fibras e, desta forma, reduzir o  $q_m$  das silagens reensiladas. Contudo, isso não aconteceu, uma vez que não houve alteração na composição dos alimentos (Tabela 2) e nos conteúdos e no consumo de energia dentre as silagens avaliadas (Tabela 3;  $P>0.05$ ).

De modo geral, quanto mais próximo a ED for da EB, maior será a quantidade de energia disponível para ser utilizada pelo organismo animal. A EM correspondeu em média a 49,5% da EB e a 80,2% da ED (Tabela 3;  $P>0,05$ ). Em um estudo envolvendo a partição de energia em ovinos alimentados com silagens de milho, Givens et al. (1989) verificaram que a EM representou em média 67,0% da EB e 80,0% da ED. Portanto, é possível verificar que os valores obtidos entre a ED e a EB (Tabela 3) foram inferiores aos reportados por Givens et al. (1989). Contudo, isso era de se esperar, uma vez que a DMO foi em média de 62,93% (Tabela 3), enquanto no estudo de Givens et al (1989) esse valor de 73,0%. Já a relação entre a ED e a EM (Tabela 3) foi semelhante ao verificado por Givens et al. (1989), e próximos aos 82,0% reportados pelo NRC (2007). Entretanto, quanto à relação entre a EM e ED, Rezende et al. (2011) comenta que os estudos no Brasil têm demonstrado diferenças entre espécies, com valores de 80,0% para bovinos, 86,0% para caprinos e 73,0% para ovinos.

As perdas de energia na urina, na forma de  $CH_4$  e nas fezes, em relação a EB ingerida, foram em média de 4,14% e 6,58% e 38,56%, respectivamente (Tabela 4;  $P>0,05$ ). Os valores verificados para a energia perdida na forma de urina e  $CH_4$  estão próximos aos verificados por Santoso et al. (2007), que foram de 5,03% e 7,43%, para urina e  $CH_4$ , respectivamente, em ovinos alimentados com silagens de milho. No entanto, quanto a energia perdida nas fezes, estes mesmos autores verificaram que os valores foram de 28,54%, ou seja, inferior aos 38,56% observados no presente estudo. A DAEB (Tabela 3) apresentou uma correlação positiva com o  $qm$  ( $r_{DAEB \times qm} = 0,83$ ;  $P<0,01$ ) e negativa com a energia bruta perdida nas fezes (EBF) ( $r_{DAEB \times EBF} = -0,67$ ;  $P<0,05$ ). A perda de energia nas fezes pode variar muito; tais variações estão relacionadas à digestibilidade do material.

As emissões de  $CH_4$  pelos ruminantes são proporcionais a ingestão de matéria seca (MS), sendo normalmente expressa com base no CMS ou em porcentagem da EB ingerida (Beuchemim et al., 2009). Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre a produção de  $CH_4$  em g/animal por dia, entre o rendimento de  $CH_4$  em g/kg de matéria seca e FDN ingerida, e para a perda de energia na forma de  $CH_4$  em relação a EB consumida pelos animais, com valores

médios de 21,93g, 20,84g, 50,78g (Tabela 6) e 6,45% (Tabela 4), respectivamente. Em 1137 observações de literatura, Pelchen et al. (1998), verificaram que os valores de energia perdida na forma de CH<sub>4</sub> em relação a EB ingerida e a produção de CH<sub>4</sub> em g/animal/dia foram de 7,22% e 22,15 g, respectivamente. Os valores verificados neste estudo estão de acordo com Pelchen et al. (1998) e com Zhao et al. (2016), que verificaram médias de 18,2g, 21,1g e 6,2%, respectivamente, para a produção de CH<sub>4</sub> em g/animal/dia, em g/kg de MS ingerida e para o desprendimento de energia na forma de CH<sub>4</sub> em relação a EB consumida.

É importante ressaltar que a dieta com alta quantidade de grãos promove uma maior produção de proprionato ruminal, o que reduz a quantidade de hidrogênio para que a metanogênese ocorra (Beuchemim et al., 2009). Por outro lado, os aumentos dos conteúdos de fibra e, conseqüente, redução do valor nutritivo da dieta, estão relacionados à maior produção de CH<sub>4</sub> entérico pelos ruminantes em relação à quantidade de produto animal produzido (carne, leite lã...).

Os conteúdos de fibras das silagens podem estar aumentados pela ação dos microrganismos aeróbios ao consumir os carboidratos solúveis e/ou pela lixiviação dos carboidratos solúveis como verificado por Coelho et al. (2018) na realização da reensilagem. Desta forma, a reensilagem poderia resultar em maior concentração relativa das frações fibrosas e, com isso, alterar o consumo e a digestibilidade da energia e/ou aumentar o rendimento de CH<sub>4</sub>. Entretanto, isso não foi verificado, e pode ser justificado pela manutenção da composição química das silagens reensiladas (Tabela 2) e pela ausência de alteração no consumo e na digestibilidade da energia (Tabela 3).

Não foi verificada nenhuma influência dos tempos de reensilagem ( $P>0,05$ ) em relação as variáveis analisadas (Tabela 3; Tabela 4; Tabela 5). Esta constatação pode ser atribuída a qualidade das silagens, ao tempo de exposição ao ar e temperatura durante a realização da reensilagem (Tabela 2) que, de forma conjunta, contribuíram para a ausência de alterações na composição das silagens e, conseqüentemente, nas variáveis estudadas.

Todas as silagens deste estudo apresentaram boa qualidade. Em seu estudo, Chen et al. (2014) e Dos Anjos et al. (2018) reportaram que a qualidade da silagem é um fator importante para se obter êxito com a reensilagem.

De maneira geral, quanto maior o tempo de exposição das silagens ao ar, maior será a disponibilidade de oxigênio para a multiplicação dos microrganismos aeróbios. Contudo, neste estudo, maiores tempos de exposição ao ar não se fez necessário, uma vez que não ia refletir a realidade local dos produtores que utilizam a reensilagem.

Quanto a temperatura ambiente, Holmes et al. (2007) mencionaram que a transferência de silagens deve ser realizada em dias frescos e Asbheill et al. (2002) só verificaram alteração na qualidade dos materiais quando as silagens foram expostas ao ar por três dias em temperatura constante de 30°C. Esta condição difere da encontrada na realização deste estudo, uma vez que as silagens foram expostas ao ar em temperatura ambiente de 9,1 a 28,9 °C, e média de 18,5°C (Tabela 1). Portanto, a qualidade das silagens e o binômio tempo e temperatura ambiente, foram os fatores determinantes para ausência ( $P>0,05$ ) de alterações nas variáveis estudadas (Tabela 3; Tabela 4; Tabela 5).

É importante ressaltar que este estudo foi realizado em uma época na qual a reensilagem é muito empregada, o que possibilitou simular as condições de temperatura ambiente e tempo de exposição ao ar utilizado pelos produtores rurais na reensilagem.

## **5. Conclusão**

A exposição das silagens ao ar em condições de temperatura ambiente na qual a reensilagem é frequentemente realizada não interferiu na partição de energia e emissão de CH<sub>4</sub> em ovinos alimentados com as silagens reensiladas.

## **Agradecimentos**

A Empresa de Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil; a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); a Escola de Veterinária da Universidade Federal Minas Gerais (EV-UFMG) e a Pró-reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPq-UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, pelo seu apoio e assistência.

## **6. Referências bibliográficas**

ASHBEIL, G.; WEINBERG, Z. G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal Industrial Microbiology & Biotechnology*, v.28, p.261-263, 2002.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of AOAC International*. 15 th ed. AOAC International. Arlington, 1990. VA.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of AOAC International. [Gaithersburg, Md.]: AOAC International, 2000. Print.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCALLISTER, T. A.; MCGINN, S. M. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, v.4, No. 035, 2009.

BOLSEN, K. K.; WHITLOCK, L.A.; HUCK, G. L.; SIEFERS, M. K.; SCHMIDT, T. E.; POPE, R. V.; URIARTE, M. E. Effect of Level of Surface Spoilage on the Nutritive Value of Maize Silage Diets. *Asinam Australasian Journal of Animal Sciences*, 13 Supplement July, p.121-122, 2000.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; SCHMIDT, R. J.; HOLMES, B. J.; MUCK, R. E. Factors affecting dry matter and quality losses in silages. Silage review. *Journal Dairy Science*, v.101, p.3952–3979, 2018.

CHEN, Y.; WEINBERG, Z, G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silage son their quality. *Journal Dairy Science*, v.97, p. 406-410, 2014.

CHWALIBOG, A. Physiological basis of heat production – The fire of life. Research School of Nutrition and Physiology, 2004.

COELHO, M. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; ANJOS, G. V. S.; OTTONI, D.; MICHEL, P. H. F.; JAYME, D. G. Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, Brasília, v.53, n.9, p.1045-1052, 2018.

DRIEHUIS, F.; WIKSELAAR, P.G.V. The occurrence and prevention of ethanol fermentation in high-dry-matter grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.80, p.711-718, 2000.

DOS ANJOS, G. V. S.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; COELHO, M. M. MICHEL, P. H. F.; OTTONI, D.; JAYME D. G. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *Journal Dairy Science*, v.101, p.1–8, 2018.

GIVENS, D. I.; EVERINGTON, J. M.; ADAMSON, A. H. The Digestibility and Metabolisable Energy Content of Grass Silage and their Prediction from Laboratory Measurements. *Animal Feed Science and Technology*, v.24, p.27-43, 1989.

HILL, J.; MCSWEENEY, C.; WRIGHT, A. G.; BISHOP-HURLEY, G.; KALANTAR-ZADEH, K. Measuring Methane Production from Ruminants. *Trends in Biotechnology*, January, v.34, No. 1, 2016.

HOLMES, B. J. AND BOLSEN, K. K. What's new in silage management. *Proceedings 15th International Silage*, 2009.

LIMA, E. M.; GONÇALVES, L. C.; KELLER, K. M.; RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. P. C.; MICHEL, P. H. F.; RAPOSO, V. S.; JAYME, D. G. Re-ensiling and its effects on chemical composition, in vitro digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure to air. *Canadian Journal of Animal Science*, v.97(2), p.250-257, 2017.

MACHADO, F. S.; RODRÍGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; RIBAS, M. N.; PÔSSAS, F. P.; JAYME, D. G.; PEREIRA, L. G. R.; CHAVES, A.V.; TOMICH, T.R. Energy partitioning and methane emission by sheep fed sorghum silages at different maturation stages. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, v.67, n.3, p.790-800, 2015

MICHEL, P. H. F.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; RAPOSO, V. S.; LIMA, E. M.; SANTOS, F. P. C.; JAYME, D. G. Re-ensiling and inoculants application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionicum* sorghum silages. *Grass Forage Science*, v.72, p.432–440, 2016.

MOSS, A. R.; GIVENS, D. I.; GARNSWORTHY, P. C. The effect of supplementing grass silage with barley on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane

production in sheep at two levels of intake. *Animal Feed Science and Technology*, v. 55, p. 9-33, 1995.

NRC-National Research Council. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and New World camelids. National Academy Science, Washington, DC, USA, 2007, 362p.

NRC - National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle, Eighth Revised Edition. Washington, DC: The National Academies Press, 2016, 494p.

OLIVEIRA, I. L.; LIMA, L. M.; CASAGRANDE, D. R.; LARA, M. A. S.; BERNARDES, T. F. Nutritive value of corn silage from intensive dairy farms in Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.46, p.494-501, 2017.

PELCHEN, A.; PETERS, K. J. Methane emissions from sheep. *Small Ruminant Research*, v.27, p.137-150, 1998.

PITT, R. E. Dry Matter Losses Due to Oxygen Infiltration in Silos. *Journal Agricultural Engineering Research*, v.35, p.193-205, 1986.

REZENDE, K. T.; TEIXEIRA, I. A. M. A.; FERNANDES, M. H. M. R. Metabolismo de energia. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds), *Nutrição de Ruminantes*, 2.ed., Jaboticabal: FUNEP; 2011. p.323-344.

RODRIGUEZ, N. M.; CAMPOS, W. E.; LACHICA, M. L.; BORGES, I.; GONÇALVES, L. C.; BORGES, A. L. C. C.; SALIBA, E. O. S. A calorimetry system for metabolism trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v 59, p.495-500, 2007.

SANTOSO, B.; MWENYA, B.; SAR, C.; TAKAHASHI. J. Produksi metana dan partisi energi pada domba yang diberi pakan basal silase atau hay rumput timothy. *Jounal Animal Science Veterinary*, v.12 (1), p. 27-33, 2007.

YAN, T., PORTER, M. G. AND MAYNE, C.S. Prediction of methane emission from beef cattle using data measured in indirect open-circuit respiration calorimeters. *Animal*, v.3:10, p.1455–1462, 2009.

ZHAO, Y, J.; O’CONNELL, N. E.; YAN, T. Prediction of enteric methane emissions from sheep offered fresh perennial ryegrass (*Lolium perenne*) using data measured in indirect open-circuit respiration chambers. *Journal Animal Science*, v.94, p.2425–2435, 2016.

## **CAPÍTULO VII**

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Nos experimentos realizados (Capítulo III; Capítulo IV; Capítulo V e Capítulo VI), foi verificado que a reensilagem não comprometeu o valor nutricional das silagens. Portanto, com base nestes experimentos, a reensilagem pode ser utilizada.

A qualidade das silagens e as condições de temperatura ambiente durante a exposição das silagens ao ar foram os principais fatores a contribuírem para ausência de alterações nas variáveis estudadas. Diante disso, devido a crescente comercialização de silagens nas diferentes regiões brasileiras e em diferentes épocas do ano, torna-se necessário que estudos envolvendo silagens de diferentes qualidades, bem como expostas à diferentes temperaturas ambientes, sejam realizados.