

Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
Escola de Veterinária da UFMG – EV/UFMG
Departamento de Zootecnia da EV/UFMG

Valor nutritivo de silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro
estádios de maturação

Naiara Taís Alves da Silva

Belo Horizonte

2019

Naiara Taís Alves da Silva

Valor nutritivo de silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Zootecnia. Área de Concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte

2019

S586v

Silva, Naiara Tais Alves da ,1989 -

Valor nutritivo de silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação/ Naiara Tais Alves da Silva. – 2019.

88 f.:il

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Doutora.

Área de concentração: Nutrição Animal.

Bibliografias: f. 15 a 52.

1. Milho - Teses - 2. Silagem - Teses - 3. Valor nutricional – Teses - I. Jayme, Diogo Gonzaga – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.085

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Valor Nutritivo do Híbrido de Milho Brs 3042 Colhido em Quatro Estádios de Maturação.

NAIARA TAÍS ALVES DA SILVA

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **25 de fevereiro de 2019**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

José Avelino Santos Rodrigues

Embrapa - Milho e Sorgo

Thierry Ribeiro Tomich

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Gado de Leite)

Lúcio Carlos Gonçalves

Universidade Federal de Minas Gerais

Ricardo Reis e Silva

Universidade Federal de Minas Gerais

Diogo Gonzaga Jayme - Orientador

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 30 de agosto de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Angela Maria Quintão Lana, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 30/08/2021, às 17:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site



https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0934262** e o código CRC **1A1B7D22**.

*Ao meu avô Vicente, em memória
Dedico este trabalho com todo o meu amor
Gostaria que estivesse aqui para presenciar esta conquista
Saudade*

Agradecimentos

A Deus pela vida, saúde, oportunidades e conquistas. Suas mãos sempre me guiaram.

Aos meus pais Ezechias e Márcia, e a minha irmã Gabriela pelo amor, por sempre me apoiarem em minhas decisões e nos momentos difíceis. Eu não teria conseguido sem a ajuda de vocês.

Aos professores Diogo Gonzaga Jayme e Lúcio Carlos Gonçalves pela oportunidade concedida, confiança, paciência, conselhos e ensinamentos que serão levados por toda a vida.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, especialmente o pesquisador José Avelino Santos Rodrigues (Piu), e a professora Kelly Moura Keller e ao grupo do LAMICO pela contribuição para a realização deste trabalho, com profissionalismo, competência e disponibilidade em ajudar.

A professora Joana Ribeiro da Glória pela contribuição com as análises estatísticas.

Aos amigos de equipe: Dalvana, Daniel (Ottoni), Fabiana, Pedro, Eduardo, Vinícius, Majela, João Pedro (Pataxó), Thiago (Thiagão), Mateus, Gustavo, Thaís, Paulo (Paulão), Thiago (Miquinho), Flávia, Isabella, Filipe (em memória), Luís Fernando, Fred, Felipe (Dornas) e Rafael que ajudaram na realização deste trabalho.

Ao Departamento de Zootecnia da EV/UFMG pela oportunidade de crescimento profissional.

Ao Colegiado de Pós-graduação em Zootecnia pela presteza.

Aos professores da Pós-Graduação em Zootecnia pelos ensinamentos e disponibilidade para esclarecer minhas dúvidas.

Ao professor Breno Mourão de Sousa pelos ensinamentos e carinho.

A CAPES pelos recursos concedidos durante o curso de doutorado.

As amigas Kat, Lud, Cimara, Cecília, Bárbara pela amizade e ajuda.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, Toninho, Fabiana e Gabi pela ajuda.

A Marli pelo carinho com minha família e por suas orações.

A minha gatinha Valentina pela companhia e amor.

RESUMO

As empresas de melhoramento genético vegetal disponibilizam no mercado, anualmente, vários genótipos de milho para a produção de silagens. O estágio de maturação para ensilagem desses genótipos de milho deve ser avaliado, pois influencia o teor de MS, proporção dos constituintes da planta, processo fermentativo, composição bromatológica e, por consequência, a produtividade e valor nutritivo das silagens. O híbrido de milho BRS 3042 foi ensilado nos estádios de maturação sem linha de leite (24,56% MS), $\frac{1}{4}$ linha de leite (29,10% MS), $\frac{3}{4}$ linha de leite (38,78% MS) e grão cheio (45,74% MS). Objetivou-se determinar o melhor estágio de maturação para ensilagem desse híbrido de milho. As maiores perdas por efluentes e perdas totais de matéria seca foram na forrageira ensilada no estágio de maturação sem linha de leite (47,84 kg/t MN e 5,50 kg/t MS, respectivamente). O pH foi adequado em todas as silagens. O N-NH₃/NT aumentou com o avanço do estágio de maturação. O ácido láctico predominou entre os ácidos orgânicos e foi maior na forrageira ensilada no estágio de maturação sem linha de leite (11,85% MS). A contagem de microrganismos aumentou após a perda de estabilidade aeróbia em todas as silagens. A produtividade de matéria seca (PMS) e rendimento de matéria seca digestível (RMSD) foram semelhantes em todos os estádios de maturação (17,0 e 11,02 t/ha, respectivamente). Os teores de FDN e FDA das silagens reduziram até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (8,51% e 15,23%, respectivamente). Os teores de PB não foram alterados. Os teores de CNF e amido aumentaram, em razão do aumento de 18,06% na proporção de espigas. No entanto, os consumos de MS, PB e FDN reduziram até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (25,50%, 48,27%, 39,34% MS, respectivamente). As digestibilidades da MS, PB e FDN reduziram (10,46%, 20,85% e 33,11%, respectivamente). O melhor estágio de maturação para a ensilagem do híbrido de milho BRS 3042 é sem linha de leite.

Palavras-chave: energia, fermentação, metano, microbiologia, silagem de milho, valor nutritivo.

ABSTRACT

The plant breeding companies make several corn genotypes available on the market each year for silage production. The maturation stage for ensilage of these corn genotypes must be evaluated, as it influences the DM content, proportion of the plant constituents, fermentation process, chemical composition and, consequently, the productivity and nutritional value of the silages. The BRS 3042 corn hybrid was ensiled at maturation stages with grains without milk line (24.56% DM), ¼ milk line (29.10% DM), ¾ milk line (38.78% DM) and full grain (45.74% DM). The objective was to determine the best maturation stage for ensilage of this corn hybrid. The highest effluent losses and total dry matter losses were in the forage ensiled at the maturation stage without milk line (47.84 kg/t NM and 5.50 kg/t DM, respectively). The pH was adequate in all silages. The N-NH₃/NT increased with the advance of the maturation stage. Lactic acid predominated among organic acids and was higher in forage ensiled at the maturation stage without milk line (11.85% DM). The microorganism count increased after the loss of aerobic stability in all silages. The dry matter productivity (DMP) and digestible dry matter yield (DDMY) were similar at all maturation stages (17.0 and 11.02 t/ha, respectively). The levels of NDF and ADF of the silages reduced until the maturation stage of the milk line (8.51% and 15.23%, respectively). CP contents were not changed. The NFC and starch levels increased due to the increase of 18.06% in the proportion of spikes. However, the DM, CP and NDF intake reduced until the maturation stage ¾ milk line (25.50%, 48.27%, 39.34% DM, respectively). The DM, CP and NDF digestibility decreased (10.46%, 20.85% and 33.11%, respectively). The best maturation stage for silage of the BRS 3042 corn hybrid is without milk line.

Key-words: energy, fermentation, methane, microbiology, corn silage, nutritive value.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1. Perdas por efluentes (kg/t de MS) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	62
Gráfico 2. Perdas por gases (% MS) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	63
Gráfico 3. Perda total de matéria seca (kg/t de MS) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	63
Gráfico 4. pH das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	64
Gráfico 5. Nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total (N-NH ₃ /NT) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	65
Gráfico 6. Ácido láctico das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	66
Gráfico 7. Ácido acético das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias dos valores de composição bromatológica das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação no 56º dia após a ensilagem	57
Tabela 2. Produtividade, composição bromatológica e características da fermentação das silagens utilizadas nas avaliações de estabilidade aeróbia e contagem microbiológica	60
Tabela 3. Temperaturas observadas durante a avaliação da estabilidade aeróbia das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	61
Tabela 4. Contagem microbiológica das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação na abertura do silo e na perda da estabilidade aeróbia	68
Tabela 5. Características agrônomicas e produtividade do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	79
Tabela 6. Composição bromatológica e características da fermentação das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	80
Tabela 7. Consumo de matéria seca, nutrientes e frações energéticas por ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	82
Tabela 8. Digestibilidade por ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	83
Tabela 9. Ingestão, excreção e balanço de nitrogênio (N) por ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	84
Tabela 10. Perdas de energia, emissão de metano (CH ₄) e metabolizabilidade da manutenção (qm) de ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	84
Tabela 11. Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	85

LISTA DE ABREVIACES

%	= Porcentagem
°C	= Graus Clsius
°C/hora	= Taxa de aquecimento
CNF	= Carboidratos no fibrosos
DIVMS	= Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DRBC	= Dicloran rosa de bengala clorafenicol
EE	= Extrato etéreo
FDA	= Fibra insolúvel em detergente cido
FDN	= Fibra insolúvel em detergente neutro
FDNcp	= Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína
H	= Horas
Ha	= Hectare
h.t.°Cmx.	= Horas necessárias para atingir a temperatura máxima
Kg	= Quilograma
MS	= Matéria seca
MM	= Matéria mineral
MO	= Matéria orgânica
N-NH ₃ /NT	= Nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total
PCA	= gar contagem padro
PE	= Perdas por efluentes
PG	= Perdas por gases
PTMS	= Perda total da matéria seca
PIDN	= Proteína insolúvel em detergente neutro
PIDA	= Proteína insolúvel em detergente cido
PMV	= Produtividade de matéria verde
PMS	= Produtividade de matéria seca
PB	= Proteína bruta
RMSD	= Rendimento de matéria seca digestível
TGY	= Triptona glicose extrato de levedura ágar
t.2°C	= Horas necessárias para elevao da temperatura das silagens acima de 2°C em relao à temperatura ambiente
t.°Cmx,	= Temperatura máxima
UFC	= Unidade formadora de colnia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Silagem de milho	15
2.2. Híbrido de milho BRS 3042	15
2.3. Estádio de maturação	15
2.4. Ensilagem	17
2.5. Qualidade de silagem	18
2.6. Perdas de silagem	20
2.7. Estabilidade aeróbia	20
2.8. Caracterização microbiológica	23
2.9. Características agronômicas e produtividade	26
2.10. Composição bromatológica e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca	28
2.11. Comportamento ingestivo	30
2.12. Consumo e digestibilidade aparente	31
2.13. Partição energética dos alimentos	33
2.14. Produção de metano entérico por ruminantes	38
3. REFERÊNCIAS	40
4. ARTIGO: Perfil fermentativo, estabilidade aeróbia e caracterização microbiológica de silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	53
Resumo	53
Abstract	54
Introdução	54
Material e Métodos	54
Resultados e Discussão	61
Conclusão	69
Referências	69

5. ARTIGO: Comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade, partição energética e emissão de metano por ovinos alimentados com silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação	71
Resumo	71
Abstract	72
Introdução	72
Material e Métodos	73
Resultados e Discussão	79
Conclusão	85
Referências	86

1. INTRODUÇÃO

No cenário mundial de produção de carne e leite, o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial com 218,2 milhões de cabeças, sendo o maior exportador de carne bovina e o quarto maior produtor de leite, com 33,5 bilhões de litros (IBGE, 2018). Apesar dessas expressivas produções, a pecuária brasileira enfrenta o entrave da sazonalidade na produção e qualidade das forrageiras ao longo do ano. Como consequência, ocorre variação na oferta de nutrientes para os animais.

Estratégias de conservação de volumosos, como a produção de silagens, são importantes para garantir regularidade na oferta de alimentos volumosos e atender os requerimentos de manutenção, crescimento, produção e reprodução dos animais, assegurando sustentabilidade e rentabilidade aos sistemas pecuários. A utilização de silagens também contribui para a intensificação dos sistemas de produção de carne e leite.

O milho é a forrageira mais utilizada para a produção de silagens, pois atende requisitos para a ensilagem, como teor de matéria seca (MS) e carboidratos solúveis adequado na colheita e baixo poder tampão. Empresas de melhoramento genético vegetal disponibilizam no mercado, anualmente, vários genótipos de milho para produção de silagens. Esses novos genótipos de milho devem ser avaliados.

A Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV/UFMG) em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Milho e Sorgo) desenvolve projetos de pesquisa na linha “Avaliação do valor nutritivo de forragens tropicais e resíduos agroindustriais” objetivando gerar alternativas que contribuam para a sustentabilidade e desenvolvimento da pecuária no Brasil.

Dentre os critérios avaliados está o estágio de maturação, pois influencia o teor de MS, proporção dos constituintes da planta, processo fermentativo, composição bromatológica e, por consequência, a produtividade e valor nutritivo das silagens. Portanto, objetivou-se determinar o melhor estágio de maturação do híbrido de milho BRS 3042 para ensilagem. Avaliou-se as características agrônomicas, produtividade, rendimento, composição bromatológica, perfil fermentativo, perdas de silagem, estabilidade aeróbia, caracterização microbiológica, comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade aparente, partição energética, e produção de metano por ovinos alimentados com silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Silagem de milho

O milho é a forrageira mais utilizadas para a produção de silagens, pois apresenta elevada produtividade, teor de matéria seca (MS) adequado para a ensilagem, facilidade de fermentação no silo, bom valor nutritivo e aceitabilidade pelos animais (Gimenes et al., 2006). Os genótipos de milho avaliados pelas instituições de pesquisa e lançados no mercado nacional demonstram o melhoramento genético dessa forrageira.

2.2. Híbrido de milho BRS 3042

O híbrido de milho BRS 3042 foi desenvolvido pelo Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e possui ciclo precoce, alta produtividade e resistência ao acamamento e quebramento. De acordo com o CNPMS, o híbrido de milho BRS 3042 apresenta características agronômicas “equilibradas”, associando alta estabilidade de produção com adaptação ampla para cultivo tanto no trópico alto como no trópico baixo. É um híbrido triplo apresenta excelente relação custo-benefício pela produtividade compatível a de híbridos simples em diversos tipos de ambientes de safra e safrinha. Em 2018 foi licenciada a comercialização de sementes do híbrido de milho BRS 3042.

2.3. Estádio de maturação

O estágio de maturação na ensilagem influencia a produtividade, composição bromatológica, consumo e digestibilidade das silagens. Com o avanço do estágio de maturação, geralmente, a proporção de grãos aumenta e proporção das frações vegetativas (colmo, folhas e brácteas) diminui (Buxton e O'Kiely, 2003). Com o avanço do estágio de maturação da planta de milho, os açúcares dos grãos são convertidos em amido e o teor de MS dos grãos aumenta (Allen et al., 2003).

O estágio de maturação adequado para ensilagem citado na literatura é definido como o momento em que o teor de MS da planta proporciona boas condições de fermentação e

conservação da silagem, e que a produtividade de matéria seca digestível (PMSD/ha) seja máxima (Paziani et al., 2008).

Revisões enfatizam aumento da concentração de amido e correspondente declínio nas concentrações de proteína bruta (PB), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e matéria mineral (MM) com o avanço do estágio de maturação (Johnson et al., 1999; Allen et al., 2003; Buxton e O'Kiely, 2003). Portanto, a colheita em estádios de maturação mais avançados tem sido sugerida para aumentar os rendimentos de MS e amido (Owens, 2014). Apesar dos efeitos sobre as concentrações dos nutrientes, o atraso da colheita prejudica digestibilidade dos nutrientes (Johnson et al., 1999; Allen et al., 2003; Ferraretto e Shaver, 2012). Como em outras culturas forrageiras, com o avanço do estágio de maturação a digestibilidade da parede celular da planta de milho diminui (Johnson et al., 1999; Bal et al., 2000; Buxton e O'Kiely, 2003), em razão da maior lignificação das frações vegetativas durante a maturação (Hunt et al., 1989; Cone e Engels, 1993). Portanto, colheitas em estádios de maturação mais avançados para obtenção de maiores concentrações de amido podem ocasionar redução da digestibilidade das frações vegetativas (Allen et al., 2003).

No entanto, em metanálise Ferraretto e Shaver (2012) relataram maior digestibilidade da FDN quando a ensilagem foi realizada com a planta de milho contendo mais de 40% de MS. Segundo os autores, isso pode estar relacionado a efeitos menos negativos da maior digestibilidade do amido ruminal na digestibilidade da FDN para silagens de milho mais seca e maduras (Russell e Wilson, 1996). No entanto, Owens (2014) sugeriu que esses resultados estão relacionados aos efeitos adversos menos óbvios da colheita tardia na digestibilidade da fibra de híbridos modernos. Mas o declínio da digestibilidade *in situ* e *in vitro* da FDN das frações vegetativas da planta de milho maduro continua a ser relatado (Lewis et al., 2004; Row et al., 2016) e mais pesquisas são necessárias.

Juntamente com os efeitos negativos sobre as frações vegetativas, o atraso na colheita também prejudica a utilização da fração grãos. Ferraretto e Shaver (2012) observaram reduzida digestibilidade do amido em dietas contendo silagem de milho com mais de 40% de MS, devido, provavelmente, ao aumento na proporção de endosperma vítreo nos grãos associado a maior maturidade. O aumento da proporção de endosperma vítreo nos grãos de milho está relacionado à dureza do grão (Correa et al., 2002) e, por consequência, pode limitar a porcentagem de grãos fraturados durante o processamento de ensilagem. Além disso, mesmo o endosperma exposto não é totalmente digerido devido à existência de uma matriz de amido-proteína formada na ligação química de proteínas zeína com grânulos de amido (Kotarski et al.,

1992). A concentração de proteínas zeína grãos do milho pode ser afetada por vários fatores, incluindo o estágio de maturação na ensilagem (Ferraretto e Shaver, 2012). Baixa digestibilidade ruminal *in vitro* do amido relatada por Ngonyamo-Majee et al. (2009), quando os grãos de milho foram colhidos em intervalos entre metade da linha de leite e a camada negra, foram relacionados ao aumento da proporção de endosperma vítreo nos grãos de milho com maturidade avançada.

No geral, as revisões da literatura têm sido consistentes com relação aos efeitos do estágio de maturação na ensilagem e o desempenho da lactação por vacas leiteiras. Johnson et al. (1999) descreveram a relação entre estágio de maturação e o valor nutritivo, estimando o conteúdo de NEL com dados de ensaios publicados sobre alimentação. Os autores revelaram que o pico de produção de leite foi atingido quando a colheita foi com aproximadamente 35% de MS ou entre metade e dois terços da linha de leite do grão.

Allen et al. (2003) sugeriram ensilagem da planta de milho entre de 32 e 35% de MS, mas observaram que mais pesquisas são necessárias, particularmente sobre as interações entre estágio de maturação, tipos híbridos e estratégias de formulação de dieta. Ferraretto e Shaver, (2012) relataram declínio na produção de leite e produção de leite corrigida para gordura (2,0 e 2,7 kg/vaca por dia, em média, respectivamente), quando a ensilagem foi realizada com mais de 40% MS. Portanto, é recomendado atingir 35% de MS na colheita para otimizar o valor nutritivo da silagem e o desempenho da lactação por vacas leiteiras (Ferraretto et al., 2018).

2.4. Ensilagem

Atualmente, a ensilagem é a principal estratégia de conservação de volumosos utilizado no país (Bernardes e Rêgo, 2014). Objetiva-se conservar o maior percentual de nutrientes da forrageira.

A ensilagem é a conservação de forrageiras, subprodutos agrícolas ou agroindustriais em meio ácido e anaeróbio. Neste ambiente, são fornecidas condições adequadas para o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios, principalmente bactérias ácido lácticas, que fermentam substratos presentes na planta (carboidratos solúveis) e produzem ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, que reduzem o pH da massa ensilada, inibindo a ação de microrganismos deteriorantes (McDonald et al., 1991). Mas, se o pH não reduz rapidamente, microrganismos indesejáveis podem competir pelos nutrientes e reduzir a qualidade da silagem. Os microrganismos indesejáveis são os envolvidos na deterioração anaeróbia (*Clostridium* e

enterobactérias) e os envolvidos na deterioração aeróbia (fungos, leveduras e bactérias) (Driehuis et al., 2000). A preservação dos nutrientes começa na colheita e termina quando o alimento é consumido pelos animais (Wilkinson e Davies, 2012).

De acordo com McDonald et al. (1991), Bolsen et al. (1992), Weinberg et al. (1996) e Tangni et al. (2013), o processo de ensilagem pode ser dividido em quatro fases: I. Fase aeróbia inicial (colheita, enchimento e compactação do silo): quando há oxigênio e o pH é de aproximadamente 6,0 e 6,5. Nessa fase, ocorre respiração das plantas e atividade de proteases e microrganismos aeróbios. II. Fase de fermentação: ocorre por várias semanas após o meio ficar anaeróbio. Nessa fase, há predomínio de bactérias ácido lácticas que reduzem o pH entre 3,8 e 5,0, o que inibe a ação de microrganismos indesejáveis. São necessárias aproximadamente 10^8 bactérias ácido lácticas por grama de forragem para que o pH reduza rapidamente (Zopollatto et al., 2009c). Quando a umidade da forrageira ensilada é elevada ou a temperatura ambiente muito baixa, o meio torna-se propício para o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*, que convertem o ácido láctico em ácido butírico e proteínas em amônia, resultando em perda de valor nutritivo da silagem. III. Fase estável: inicia-se quando as bactérias ácido lácticas fermentaram todos os açúcares disponíveis ou o pH reduziu o suficiente para limitar o seu desenvolvimento. Ocorrem poucas alterações e não há presença de oxigênio no silo. É quando a silagem é considerada apta a ser utilizada. IV. Fase de desabastecimento: nessa fase o oxigênio entra em contato com a silagem reativando vários microrganismos aeróbios, principalmente leveduras, fungos e bactérias ácido-acéticas, que consomem nutrientes e produzem dióxido de carbono (CO_2) e água, deteriorando as silagens.

2.5. Qualidade de silagem

A conservação do valor nutritivo da forrageira depende da eficiência do processo fermentativo. Os principais parâmetros utilizados para avaliar a qualidade do processo fermentativo são teor de MS, pH, nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total ($\text{N-NH}_3/\text{NT}$) e ácidos orgânicos (Tomich et al., 2003).

O teor de MS influencia a compactação e fermentação das forrageiras nos silos. Os teores ideais de MS para obtenção de silagens de qualidade são entre 30 e 35% (McDonald et al., 1991).

Teores de MS inferiores a 25% ocasionam compactação excessiva, propiciando ambiente favorável para o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido butírico e perda

do valor nutritivo por degradação de proteínas e produção de N-NH₃/NT, e lixiviação dos nutrientes. Além disso, quando a planta é colhida muito nova a produção de MS e grãos por hectare (ha) pode ser menor (Costa, 2000).

No entanto, elevados teores de MS (35 a 40%) ocasionam maiores perdas na colheita, dificuldade de compactação da forrageira no silo, o que impede a saída do oxigênio e propicia o crescimento de microrganismos aeróbios (Ferreira, 2001).

A rápida redução do pH diminui a degradação pelas enzimas da planta e cessa o crescimento de microrganismos anaeróbios indesejáveis, como enterobactérias e bactérias do gênero *Clostridium* (McDonald et al., 1991). O valor adequado de pH para conservação eficiente depende do teor de MS da forrageira (Tomich et al., 2003). Para ensilagem de forrageiras com baixos teores de MS são necessários valores mais baixos de pH para inibir fermentações indesejáveis. Para forrageiras ensiladas com teor de MS acima de 35% pH mais elevado pode ser suficiente para conservação da forrageira (McDonald et al., 1991).

A formação de amônia no silo ocorre, principalmente, pela degradação de proteínas pela fermentação por bactérias do gênero *Clostridium*. O N-NH₃/NT indica a quantidade de proteína degradada na fermentação. Silagens de milho bem conservadas apresentam no máximo 10% de N-NH₃/NT. Altos teores de N-NH₃/NT são observados, geralmente, em silagens com baixos teores de MS (McDonald et al., 1991).

A determinação dos ácidos orgânicos é essencial na avaliação da qualidade da fermentação. Geralmente, os ácidos avaliados são o láctico, acético propiônico e butírico. O ácido láctico é importante na conservação das forrageiras por ser o responsável pela redução do pH. O ácido láctico se dissipa facilmente pela massa ensilada devido a sua maior constante de dissociação (McDonald et al., 1991).

O teor de ácido acético produzido por enterobactérias, algumas bactérias lácticas e em menor proporção por bactérias do gênero *Clostridium* é correlacionado com a dificuldade na redução do pH (McDonald et al., 1991).

O teor de ácido butírico é um dos principais indicadores negativos e reflete a atividade de bactérias do gênero *Clostridium*. Está associado à dificuldade de redução do pH e baixo consumo pelos animais. Geralmente, quando o processo fermentativo ocorre de maneira eficiente são observados teores de ácido láctico próximos de 8 a 12% MS, ácido acético inferiores a 2,5% MS e ácido butírico inferiores a 0,3% da MS (McDonald et al., 1991; Tomich et al., 2003).

2.6. Perdas de silagem

A produção de silagens apresenta perdas de nutrientes em diversas proporções. Geralmente, somente as perdas de silagens ocasionadas por fungos e apodrecimento são consideradas, subestimando as perdas de todo o processo, que são variáveis. Alguns parâmetros podem ser utilizados para o controle da qualidade, como o teor de umidade, tamanho de partículas e massa específica (ME). O teor de MS da planta entre 30 e 35% e tamanho de partículas entre 1 e 2 cm auxiliam na compactação das forrageiras nos silos. Em condições favoráveis, a ME do material deve estar entre 550 e 850 kg de matéria natural (MN)/m³ (Jobim et al., 2007).

Geralmente, as mensurações das perdas de silagens são calculadas como perda total de MS, perda por gases e perda por efluentes. As perdas por gases são consequência da fermentação das forrageiras nos silos. Segundo McDonald et al. (1991), as maiores perdas estão relacionadas à produção de ácido butírico, promovida por bactérias do gênero *Clostridium*. As perdas por efluentes estão associadas a umidade do material, seu processamento físico e compactação das forrageiras nos silos. Em forrageiras ensiladas com alta umidade as perdas de MS por efluentes podem exceder 10%, enquanto a produção de efluentes é pouco significativa em forrageiras ensiladas com aproximadamente 30% de MS (Jones e Jones, 1995).

Durante o processo de ensilagem perdas de MS, principalmente de constituintes nutritivos mais digestíveis, ocorrem desde a colheita até a abertura dos silos. Na colheita ocorrem perdas pela respiração da planta, na fermentação por produção de gases e efluentes (Junges et al., 2013) e após a abertura dos silos pela entrada de oxigênio na massa ensilada.

2.7. Estabilidade aeróbia

A entrada de oxigênio dentro do silo após abertura é prejudicial à qualidade da silagem, uma vez que favorece o crescimento de microrganismos que podem degradar os nutrientes mais digestíveis (carboidratos solúveis) e aumentar a proporção de componentes fibrosos da silagem (Tabacco et al., 2011; Wilkinson e Davies, 2012). Esses microrganismos também podem degradar os produtos da fermentação (ácido láctico). Assim, ocorre a produção de CO₂, água e calor e, por consequência, aumento da temperatura e pH da massa ensilada, caracterizando perda de estabilidade aeróbia ou deterioração aeróbia (Filya et al., 2006).

A deterioração aeróbia dos ácidos orgânicos pelas leveduras e, ocasionalmente bactérias ácido acéticas, aumenta o pH, o que permite o crescimento de bacilos, enterobactérias e fungos (Tangni et al., 2013).

Estabilidade aeróbia é a resistência da silagem a deterioração após exposição ao ar, ou velocidade com que as silagens se deterioram (Jobim et al., 2007). Bernardes et al. (2007), Tabacco et al. (2011) e Ávila et al. (2010) estimaram a perda de estabilidade aeróbia como o tempo necessário para que ocorra a elevação de 2°C da temperatura da silagem em relação a temperatura ambiente. Borreani et al. (2010) verificaram correlação positiva entre a temperatura medida a 40 cm de profundidade no painel do silo com o pH, contagem de leveduras, contagem de fungos e esporos de bactérias do gênero *Clostridium*, e correlação negativa com a concentração de ácido lático, ácido acético e nitratos.

Em algumas silagens dois picos de temperatura são detectados durante a deterioração aeróbia, com o primeiro cerca de dois ou três dias após a exposição aeróbia, e refere-se ao desenvolvimento de leveduras, e o segundo cerca de três ou quatro dias mais tarde, devido ao desenvolvimento de fungos (McDonald et al., 1991). Tabacco et al. (2009) avaliaram as silagens em aerobiose e verificaram pico de temperatura no segundo e terceiro dia, e no sexto e oitavo dia, para silagens de milho e sorgo, respectivamente. O primeiro e segundo pico de temperatura ocorreram quando as leveduras e os fungos apresentavam altas taxas de crescimento. Após o primeiro pico de temperatura foi observado aumento do pH, o que possibilita o crescimento dos vários microrganismos envolvidos no processo de deterioração.

Em condições ideais de armazenamento e desabastecimento dos silos, as perdas de MS variam de 12 a 16% (Holmes et al., 2007). Segundo Velho et al. (2006), as perdas de MS decorrentes da entrada de ar durante o enchimento dos silos variam de 1 a 2%, enquanto as decorrentes da aeração na desensilagem variam de 2 a 19%. Tangni et al. (2013) relataram que nas áreas afetadas pela deterioração aeróbia, as perdas de MS podem ser de 1,5 a 4,5% por dia.

A manutenção de maior tempo estável visa a conservação dos nutrientes e formulação de dietas precisas. Assim, parte dos esforços para produzir silagem em quantidade e qualidade é anulada quando ocorre a perda da estabilidade aeróbia (Tabacco et al., 2011).

2.7.1. Fatores que influenciam a deterioração aeróbia das silagens

Os principais fatores que influenciam a deterioração aeróbia das silagens são temperatura ambiente, disponibilidade de substratos fermentáveis e oxigênio. Em condições

ideais de temperatura e presença de nutrientes a deterioração aeróbia das silagens é influenciada diretamente pela disponibilidade de oxigênio.

2.7.1.1. Temperatura ambiente

A atividade aeróbia dos microrganismos nas silagens aumenta geometricamente com a temperatura do ambiente, podendo duplicar para cada aumento de 10°C (Holmes et al., 2007).

Ashbeill et al. (2002) estudaram o efeito das temperaturas de 10, 20, 30 e 40°C, durante 3 e 6 dias de exposição ao ar atmosférico, sobre a estabilidade aeróbia das silagens de trigo e milho. Nas silagens de milho o pH foi maior na temperatura de 30°C, no terceiro e sexto dia de exposição aeróbia. Nas silagens de trigo o pH nas diferentes temperaturas foi mais estável. Em ambas as silagens as maiores produções de CO₂ foram na temperatura de 30°C e as menores nas temperaturas de 10 e 40°C, no terceiro e sexto dia, com aumento da produção de CO₂ em função dos tempos avaliados. No sexto dia de exposição aeróbia os teores de ácido láctico e ácido acético reduziram nas temperaturas de 20 e 30°C em relação aos demais tratamentos. As maiores perdas nas silagens de milho e trigo foram observadas nas temperaturas de 20 e 30°C.

Koc et al. (2009) avaliaram a estabilidade aeróbia de silagens oriundas de silos mantidos em temperaturas de 20, 30 e 37°C e observaram que as maiores produções de CO₂ foram verificadas nas silagens mantidas a 30 e 37°C.

É impossível controlar a temperatura ambiente, no entanto, a sua influência deve ser conhecida e relacionada com os outros fatores que também contribuem para o crescimento dos microrganismos aeróbios.

2.7.1.2. Substratos fermentáveis

A atividade dos microrganismos que deterioram a silagem é mais intensa quanto melhor for a qualidade da silagem, em função dos maiores teores de carboidratos residuais e ácido láctico (Jobim et al., 2007). Segundo Matos et al. (2006), as silagens de milho são as mais susceptíveis a deterioração aeróbia, em razão dos altos teores de carboidratos solúveis e amido.

Além de influenciar a taxa de deterioração, as condições de meio também interferem nos microrganismos presentes no processo deterioração das silagens. As silagens de gramíneas tropicais apresentaram deterioração, principalmente, por bactérias aeróbias, em razão de suas particularidades, como estabilidade de fermentação em pH acima de 4,5 e ausência de substrato

para o crescimento de leveduras (Andrade et al., 2012). Já em silagens com alta quantidade de substratos fermentáveis, geralmente, a deterioração aeróbia é mais intensa e com grande presença de leveduras.

2.7.1.3. Presença de oxigênio

A presença do oxigênio no silo está relacionada com o tamanho de partículas e teor de MS das forrageiras, falha na compactação e vedação dos silos, e exposição das silagens ao ar atmosférico antes e durante a sua utilização.

Parsons et al. (1991) avaliaram a entrada de ar na abertura dos silos e verificaram que a concentração de oxigênio e contagem de microrganismos foi maior na parte superior do silo, onde a compactação era menos eficiente. Os autores também verificaram que na parte superior do silo, que foi menos compactada, o oxigênio penetrou quatro metros, enquanto na parte inferior, mais compactada, a penetração foi de apenas um metro. A presença do oxigênio no momento de abertura dos silos inevitavelmente proporciona a deterioração aeróbia das silagens. No entanto, se a exposição for antes do momento de utilização das silagens, as consequências podem ser maiores.

Dolci et al. (2011) avaliaram silagens vedadas por filmes de polietileno de diferentes porosidades e armazenadas por 110 dias, e observaram que na abertura dos silos as silagens armazenadas com o filme de menor porosidade apresentaram contagem de fungos e leveduras de 1,41 e 1,17 \log^{10} /unidades formadoras de colônia (UFC), enquanto para as silagens armazenadas com o filme de maior porosidade, a contagem de fungos e leveduras foi de 1,74 e 3,12 \log^{10} /UFC, respectivamente. A perda de estabilidade aeróbia dessas silagens ocorreu após 152 e 65 horas, para o filme de menor e maior porosidade, respectivamente. Segundo McDonald et al. (1991), a redução da concentração de oxigênio na silagem é a maneira mais eficiente de controlar a deterioração aeróbia das silagens, antes e durante a sua utilização.

2.8. Caracterização microbiológica

Segundo Muck (2010), as forrageiras possuem microrganismos aeróbios e anaeróbios antes de ensilada. A avaliação de silagens por meio da contagem, caracterização microbiológica e produtos do metabolismo microbiano têm sido realizadas nos últimos anos. No entanto, no Brasil os dados ainda são escassos. Em muitas fazendas as silagens passam por várias

intensidades de deterioração aeróbia antes e durante o fornecimento, demonstrando a necessidade de mais estudos (Jobim et al., 2007; Gimenes et al., 2006).

Os principais microrganismos envolvidos na perda de estabilidade aeróbia das silagens são leveduras e fungos (Santos et al., 2013), apesar de algumas bactérias acéticas também participarem.

2.8.1. Leveduras

A maioria das leveduras são aeróbias estritas, no entanto, podem ficar dormentes dentro do silo até que seja aberto e o ar atmosférico entre na massa ensilada (Pahlow et al., 2003). As leveduras são as primeiras a desenvolverem, pois são capazes de reproduzir em ambientes com pouco oxigênio e pH mais ácido (Muck, 2010).

Em condições anaeróbias, as leveduras obtêm energia por meio da fermentação de açúcares (Driehuis et al., 2000), mas em condições aeróbias utilizam vários substratos, como ácidos orgânicos, lactato, acetato, citrato, malato e succinato (McDonald et al., 1991). As leveduras são responsáveis por iniciar o processo de deterioração aeróbia das silagens, por meio da oxidação dos ácidos orgânicos (Driehuis et al., 2001) e carboidratos solúveis (Koc et al., 2009). Muitas leveduras são capazes de desenvolver em pH de até 3,5, que é um valor abaixo do observado na maioria das silagens (Muck, 2010). O maior desenvolvimento das leveduras ocorre em temperaturas de 37°C e pH 6,0. Em pH próximo de 3,5 a taxa de crescimento das leveduras reduz em até 80% (Pitt e Muck, 1993). Em condições ótimas para o seu crescimento, a quantidade de leveduras pode duplicar em aproximadamente 2 horas (Kung, 2010).

As leveduras são divididas em dois grandes grupos: as utilizadoras de ácidos orgânicos, como os gêneros *Cândida*, *Endomycopsis*, *Hansenula* e *Pichia* e aquelas que utilizam açúcares como o gênero *Torulopsis*. Consomem ácido láctico, promovendo a elevação do pH da massa ensilada, e carboidratos solúveis. Em ambos os substratos ocorre produção de CO₂, água e calor, o que aumenta os produtos de reação de Maillard (Jobim et al., 1997).

A atividade metabólica das leveduras também implica em aumento do pH, que ao chegar a valores próximos de cinco permite o desenvolvimento dos principais fungos e bactérias associados a deterioração aeróbia das silagens (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003).

Rossi et al. (2007) avaliaram amostras de silagens coletadas na face do silo e observaram que as principais espécies de leveduras foram *Candida apicola*, *Candida mesenterica* e *Pichia*

fermentans. Segundo Pereira et al. (2002), as principais leveduras que iniciam o processo de deterioração são *Candida krusei*, *Pichia fermentanse* e *Hansenula anomala*.

2.8.2. Fungos

Os fungos são aeróbios estritos e crescem mais lentamente quando comparados aos outros microrganismos. O crescimento dos fungos nas silagens é normalmente restrito as camadas superficiais e geralmente indica falha na compactação e/ou vedação dos silos (Driehuis et al., 2000). Já na deterioração aeróbia os fungos podem ser encontrados em toda a silagem (Cheli et al., 2013). Se desenvolvem entre de 10 a 40°C. No entanto, a temperatura ótima é entre 25 e 35°C. O pH ótimo para crescimento é acima de cinco. Não são tolerantes à meios ácidos, o que faz que se desenvolvam em sucessão às leveduras durante a deterioração aeróbia (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003). Pesquisas mostraram contagem significativa de fungos aproximadamente oito dias após exposição ao ar (Gerlach et al., 2013).

A população de fungos não apresenta grande impacto nas perdas totais da qualidade das silagens, podendo ser justificada pelo seu ciclo longo de multiplicação, que pode variar de 3 a 14 dias, dependendo da espécie. No entanto, quando as silagens passam por maiores períodos de exposição aeróbia, o envolvimento desses microrganismos no processo de deterioração torna-se significativo.

A presença dos fungos é indesejável, pois além de consumirem açúcares e ácido lático, também hidrolisam e metabolizam celulose e outros componentes da parede celular (Guim et al., 2002), contribuindo com o aumento da temperatura e diminuição de fontes energéticas para os animais (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003). O desenvolvimento dos fungos também pode causar a descoloração e mudanças de textura da forragem, que são frequentemente associados com diminuição da aceitabilidade e consumo pelos animais (Tangni et al., 2013). Além disso, alguns fungos podem oferecer riscos aos animais e pessoas pela produção e transferência de micotoxinas ao longo da cadeia alimentar (Borreani et al., 2008).

Os principais gêneros de fungos encontrados em silagens são *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* (Cheli et al., 2013), *Mucor*, *Byssochlamys*, *Arthrimum*, *Geotrichum* e *Monascus*. Orsi et al. (2000) avaliaram 195 amostras grãos de milho no Brasil e verificaram que *Fusarium* spp foi o gênero mais frequentes, seguido por *Penicillium* spp, *Aspergillus* spp, *Trichosporon* spp, *Cladosporium* spp e fungos não esporulados. Em que, *Aspergillus* spp e *Fusarium* spp produzem as micotoxinas de maior importância para a saúde animal (Koc et al., 2009). No

entanto, a presença de fungos no alimento não implica, obrigatoriamente, em produção de micotoxina, assim como as micotoxinas podem estar presentes no alimento mesmo na ausência de fungos (Pereira et al., 2002).

2.8.3. Bactérias

A influência das leveduras e fungos no processo de deterioração aeróbia foi bastante discutido, enquanto a influência das bactérias ainda tem sido negligenciada (Liu et al., 2013).

As bactérias ácido acéticas geralmente iniciam o processo de deterioração aeróbia das silagens, metabolizando etanol e produzindo ácido acético. Em baixas quantidades de etanol as bactérias podem metabolizar ácido acético e produzir CO₂ (Muck, 2010). O consumo desses substratos ocasiona aumento do pH, possibilitando o desenvolvimento de outros microrganismos deteriorantes, como os *Bacillus* spp. Após a temperatura das silagens atingirem valores superiores a 40°C ocorre declínio na população de leveduras e aumento na população de *Bacillus* spp (Johnson et al., 2002) e um novo pico de temperatura ocorre com valores superando 50°C (Muck, 2010).

A presença de *Bacillus* spp pode ocasionar alterações significativas nas silagens, especialmente no conteúdo de proteínas, uma vez que a maioria é proteolítico (Bernardes et al., 2007). Além dos *Bacillus* spp, outras bactérias proteolíticas, como as do gênero *Clostridium*, podem estar presentes na deterioração aeróbia das silagens. Segundo (McDonald et al., 1991) esses microrganismos podem se desenvolver em microambientes anaeróbios criados por microrganismos aeróbios, como leveduras e *Bacillus* spp.

2.9. Características agronômicas e produtividade

Com o avanço do estágio de maturação a proporção dos constituintes da planta é alterada (Oliveira et al., 2013b). Geralmente, as frações vegetativas são reduzidas, devido a translocação de nutrientes para o enchimento dos grãos (Buxton e O'Kiely, 2003).

Zopollatto et al. (2009ab) avaliaram os híbridos de milho CO 32, AG 5011, P 3041, DKB 333B, AG 1051 e Z 8550 colhidos nos estádios de maturação de 50% de florescimento masculino, 15 dias após esta data e, posteriormente, a cada semana, totalizando oito cortes, e observaram que com o avanço do estágio de maturação houve aumento nos teores de MS das frações colmo (16,9 vs. 28%), folha (23,2 vs. 48,8%), sabugo (10,0 vs. 55,5%) e grãos (50,4 vs.

70,9%). Houve aumento na proporção de MS acumulada nos sabugos (1,6 vs. 9,2%) e grãos (0 vs. 43,4%) e redução na proporção de colmo (63,4 vs. 29,5%) e folhas (27,5 vs. 10,8%). O teor de MS da planta apresentou baixos coeficientes de correlação com a produtividade de MS da planta (0,27), colmo (0,13) e grãos (0,40). A produtividade de MS da planta apresentou alta correlação positiva com a produtividade de colmo (0,83) e grãos (0,72). Segundo os autores, o aumento no teor de MS da planta não resulta em maiores produtividades de MS da planta, colmo e grãos.

Pereira et al. (2011) avaliaram a produtividade de MS e concentrações das frações da planta de híbridos de milho colhidos nos estádios de maturação de $\frac{1}{2}$ linha de leite, $\frac{3}{4}$ linha de leite e camada negra (33,4, 39,4 e 52,1% de MS, respectivamente) e observaram redução das frações vegetativas na MS total da planta com o avanço do estágio de maturação. Houve aumento da fração grãos na produção e proporção na MS total da planta. As maiores produtividades e proporções em ordem decrescente foram de grãos (36,7; 44,0 e 47,3%), colmo (23,3; 21,8 e 20,2%), folhas (19,8; 18 e 16,3%), palhas (11,1; 8,4 e 8,4%) e sabugos (9,0; 8,0 e 7,8%), para os estádios de maturação de $\frac{1}{2}$ linha de leite, $\frac{3}{4}$ linha de leite e camada negra, respectivamente. A fração folhas foi a que mais contribuiu para o enchimento dos grãos, uma vez que é a principal fonte de fotoassimilados utilizados no enchimento dos grãos (Fancelli e Dourado Neto, 2004).

Paziani et al. (2009) utilizaram de dados do Programa de Avaliação de Cultivares de Milho para Silagem IAC/APTA/ESALQ e observaram que a PMSD foi afetada tanto pelas produções de massa e grãos quanto pelas digestibilidades da planta e colmo. A PMSD apresentou os maiores coeficientes de correlação com a produção de MS (0,85), produção de grãos na ensilagem (0,60), maturidade (0,68), produção de matéria verde (0,47) e índice de espigas (0,48). Os coeficientes de correlação entre PMSD e digestibilidade da planta inteira (0,44), e PMSD e colmo (0,38) foram inferiores aos obtidos para a produção de MS. A digestibilidade da planta foi influenciada pela digestibilidade do colmo (0,60) e parâmetros relacionados aos grãos.

Oliveira et al. (2013a) avaliaram o híbrido de milho AS-1545 nos estádios de maturação de pleno florescimento, grão leitoso, pastoso, pastoso a farináceo, farináceo e farináceo a duro. O avanço do estágio de maturação proporcionou taxas lineares crescentes de secagem, com média diária de 0,45% MS para palha mais sabugo, 0,15% de MS nas folhas e 1,28% de MS nos grãos, por consequência, na planta de milho aumentaram 0,39% de MS. A ensilagem no estágio de maturação de grão farináceo a duro (32,6% de MS) promoveu aumento na produção

de matéria verde (50.565 vs. 62.234 kg/ha), produção de MS (12.944 vs. 20.288 kg/ha), e produção de grãos (3.100 vs. 8.329 kg/ha), comparado ao estágio de maturação de grão pastoso a farináceo (25,6% de MS).

Beleze et al. (2003) avaliaram os híbridos de milho Pioneer superprecoce P32R21, precoces P30R07, P3041 e P30F33, e semiprecoce P30F80, em cinco estádios de maturação (30, 34, 38, 42 e 46% MS, respectivamente), e observaram que as produções de matéria natural (MN), MS, grãos, lâmina foliar e colmo + bainha, expressas em toneladas/ha, diferiram entre os híbridos e houve efeito dos dias após o plantio. O aumento na produção de MS verificado com o avanço do estágio de maturação dos híbridos foi correlacionado positivamente com o aumento da produção de grãos ($R^2 = 64,3\%$). A produção de MS correlacionou-se positivamente com a percentagem de espiga ($R^2 = 56,0\%$) e negativamente ($R^2 = -56,7\%$) com a percentagem de colmo + bainha (em relação a planta inteira).

Deve-se considerar a produtividade e proporção das frações da planta, com ênfase na digestibilidade da fibra. Para obtenção de elevada produção de MS de qualidade é preciso conhecer ao longo do estágio de maturação os ganhos em valor nutritivo pela maior proporção de grãos na planta e as perdas proporcionada pela redução da digestibilidade do colmo, ponderando até que ponto existe saldo positivo na produção de nutrientes digestíveis (Zopollatto et al., 2009ab).

2.10. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca

O avanço do estágio de maturação não diminui o valor nutritivo do milho como na maioria das gramíneas. Geralmente o aumento da fração grãos, que apresenta melhor valor nutritivo, compensa a redução na digestibilidade das frações vegetativas associada ao acúmulo de ligninas (Nussio et al., 2001). De acordo com Deminiciis et al. (2009), o momento adequado para a colheita deve ser nos estádios de maturação mais avançados, em que haja acúmulo de biomassa (maior porcentagem de grãos), para maior “diluição” da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) por amido e aumento da digestibilidade da matéria orgânica e valor energético.

No entanto, a digestibilidade do amido dos grãos também pode ser reduzida nos estádios de maturação mais avançados, comprometendo o valor nutritivo das silagens (Ferraretto e Shaver (2012). Com a menor digestibilidade do amido, a hipótese de que o teor de FDN seja “diluído” pelo progressivo teor de amido decorrente do enchimento dos grãos pode não ocorrer, ocasionando menor digestibilidade de plantas colhidas em estádios de maturação avançados.

Além disso, há grande variação genotípica na qualidade da fração fibrosa das plantas de milho, expressa pelo consumo e digestibilidade das silagens. Essa abordagem torna-se ainda mais importante ao se considerar que as frações vegetativas podem totalizar aproximadamente 65% do total de MS da planta de milho (Pereira et al., 2011).

Com o avanço do estágio de maturação a relação grãos/frações vegetativas aumenta, mas a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) da planta pode não ser afetada, devido a redução da digestibilidade dos colmos. Geralmente, a DIVMS do colmo de milho decresce com o avanço da maturidade e é altamente correlacionada com o teor de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e ligninas.

Os híbridos de milho que contêm menores concentrações de ligninas apresentam maiores DIVMS e degradabilidades da MS e FDN no rúmen que os híbridos normais (Oba e Allen, 1999). Contudo, há limite de redução do teor de ligninas e componentes da parede celular nos híbridos de milho, de maneira que características agronômicas, como a resistência ao acamamento e doenças, não sejam intensificadas nos genótipos de baixa ligninas (Buxton et al., 1996).

Oliveira et al. (2013ab) observaram que plantas de milho ensiladas no estágio de maturação dos grãos pastoso-farináceo (25,6% de MS) apresentaram maiores perdas de MS (9,8% vs. 2,6%) e PB (8,9 vs. 0,7%) comparado a planta no estágio de maturação dos grãos farináceo-duro (32,6% de MS). A ensilagem no estágio de maturação dos grãos farináceo-duro obteve maior nutrientes digestíveis totais (NDT) (64,48 vs. 69,56%) e menor FDN (55,08 vs. 50,55%) e FDA (33,38 vs. 26,12%), comparado ao estágio de maturação de grão pastoso-farináceo.

Vilela et al. (2008) avaliaram o valor nutritivo de silagens de cultivares de milho Geneze 2004, Agroceres 1051, Pioneer 30S40 e Pioneer 30F90 ensiladas nos estádios de maturação sem linha de leite, 1/3 linha de leite, 1/2 linha de leite, 2/3 linha de leite e camada negra, e observaram que a porcentagem de MS das silagens variou de 26,5 a 45,0%. O estágio de maturação influenciou a porcentagem de PB das silagens, que variou de 10,7 a 8,1%. Os maiores valores de FDN e FDA foram observados nos estádios 2/3 linha de leite e camada negra. A porcentagem de ligninas foi influenciada pelos cultivares. A DIVMS foi influenciada pelos cultivares e pelos estádios de maturação, variando de 51,1 a 69,8%. A ensilagem do milho no estágio 1/2 da linha do leite obteve melhor DIVMS. Os cultivares GNZ 2004, AG1051 e P30F90 foram mais indicados para ensilagem e o melhor estágio de maturação foi 1/2 linha do leite.

Veiga (2008) avaliou as características agronômicas e produtividade dos híbridos de milho BRS 1035, BRS 1031 e BRS 1001 ensilados aos 87, 94, 101 e 171 dias após o plantio (27,95; 35,06; 37,51 e 73,0% de MS, respectivamente) e observou aumento no teor de MS para todos os híbridos com o avanço do estágio de maturação. Os teores de PB do híbrido BRS 1035 não diferiram entre os estádios de maturação. Para o híbrido BRS 1031 houve diminuição dos teores de PB dos 87 (5,42%) para 94 e 101 dias após o plantio (4,09 e 4,29%, respectivamente), e não diferiu 171 dias (5,26%). Não houve diferença nos teores de FDN para os híbridos BRS 1035 e BRS 1001 nos diferentes estádios de maturação. Para o híbrido BRS 1031, o maior teor de FDN foi obtido aos 94 dias (62,64%), sem diferença para os demais estádios de maturação. Não houve diferença nos teores de FDA entre os híbridos e entre os estádios de maturação. Considerando-se a DIVMS, o híbrido BRS 1035 deve ensilado aos 87 dias após o plantio, enquanto os híbridos BRS 1031 e BRS 1001 toleram “janela de corte” de até 94 dias após o plantio.

Salazar et al. (2010) avaliaram o valor nutricional do colmo de 15 híbridos de milho colhidos aos 90, 120 e 150 dias após a germinação. O quarto e o quinto internódios dos colmos foram retirados para determinação da composição bromatológica e DIVMS. Com o avanço do estágio de maturação houve redução no teor de FDN e aumento no teor de ligninas de ambos os internódios. Observou-se aumento na DIVMS do quinto internódio, mas não houve mudanças na do quarto internódio. Com o avanço do estágio de maturação houve redução da digestibilidade *in vitro* da FDN (DIVFDN) do quarto internódio, mas não a do quinto. Segundo os autores a DIVFDN do quarto internódio pode ser utilizada como parâmetro de seleção para aumento do valor nutricional de híbridos de milho. Nos três estádios de maturação houve variabilidade genética dos parâmetros de valor nutritivo, o que reflete a possibilidade de indicação de diferentes estádios de maturação para os diferentes híbridos de milho.

2.11. Comportamento ingestivo

Os fatores que afetam o consumo e comportamento ingestivo estão relacionados ao alimento, ambiente e animal (Silva et al., 2004). Vários fatores, principalmente, os teores de FDN e a forma física da dieta, podem comprometer a ingestão dos alimentos, afetando o comportamento ingestivo dos ruminantes (Bastos et al., 2014).

O aumento do tamanho das partículas e os teores de FDN de origem forrageira da dieta podem aumentar o tempo desprendido pelos animais na atividade de mastigação. Esse aumento, por sua vez, resulta em maiores tempos de ruminação e alimentação (Lu et al., 2005).

O estudo do comportamento ingestivo é importante na avaliação das dietas. O manejo alimentar pode ser ajustado para obtenção de melhor desempenho produtivo (Silva et al., 2004).

2.12. Consumo e digestibilidade aparente

O consumo é importante na determinação da qualidade das forrageiras. O consumo é influenciado pelo tipo de forragem, composição bromatológica e digestibilidade. Geralmente, o consumo de silagens é menor do que forragens frescas, devido aos produtos oriundos da fermentação (ácido butírico, ácido acético, amônia, etc.). O consumo de silagens varia de 20 a 75 gramas por unidade de tamanho metabólico (McDonald et al., 1991).

O consumo é regulado por fatores físicos, químicos e metabólicos (Silva, 2006). Dietas de baixa digestibilidade se correlacionam mais com fatores físicos. Dietas de alta digestibilidade da MS se correlacionam mais com os fatores metabólicos (Conrad et al., 1964).

O coeficiente de digestibilidade indica a porção do alimento que está apta a ser absorvida pelo animal. É considerado um dos principais parâmetros para avaliar volumosos (Minson, 1990). A determinação da digestibilidade aparente simplesmente computa e desconta a quantidade de nutrientes presentes nas fezes em relação ao ingerido pelo animal. No entanto, as fezes não contêm somente material indigestível, mas também produtos metabólicos incluindo bactérias e perdas endógenas do metabolismo animal. Portanto, quando se desconta a perda metabólica fecal, obtém-se a digestibilidade verdadeira do alimento, valor esse sempre superior a digestibilidade aparente. No entanto, na porção fibrosa do alimento o valor de digestibilidade aparente e verdadeira são iguais, uma vez que não há produção endógena no organismo do animal (Berchielli et al., 2011).

Oba e Allen (1999) afirmaram que a digestibilidade da FDN é um importante parâmetro para avaliar a qualidade das forrageiras, pois a degradabilidade da FDN no rúmen varia extensamente, podendo influenciar o desempenho animal. O consumo de matéria seca de forragens está correlacionado com o teor de FDN. Para forrageiras com digestibilidade da MS inferior a 66,7% o fator enchimento exerce maior influência sobre o consumo, enquanto para forrageiras muito digestíveis (acima de 66,7%) o mecanismo fisiológico (quimiostático) destaca-se no controle da ingestão de alimento (Conrad et al., 1964). Segundo Mertens (1994),

o efeito de enchimento do rúmen varia com o tamanho inicial da partícula, fragilidade à trituração e taxa e extensão da digestão da FDN. Já os teores de FDA estão relacionados com alterações na digestibilidade das forrageiras (Van Soest, 1994).

Pôssas (2013) avaliou o consumo e a digestibilidade aparente por ovinos alimentados com híbridos de milho nos estádios de maturação de grãos pastoso, farináceo e farináceo-duro, e verificaram que os consumos de MS por unidade de tamanho metabólico (CMS/UTM) variaram de 43,36 a 62,02 g/UTM/dia. Não houve diferença no CMS/UTM para os diferentes estádios de maturação dos híbridos BRS 1035 e BRS 1031. No entanto, os animais que receberam a silagem do híbrido BRS 1001 no estádio de maturação de grão farináceo apresentaram menor CMS/UTM (47,04 g/UTM). Os valores das digestibilidades aparentes da MS (DAMS) variaram de 55,33 a 64,10%. Não houve diferença nas DAMS para as silagens dos híbridos com o avanço do estádio de maturação. O consumo de PB por unidade de tamanho metabólico (CPB/UTM) variou de 2,39 a 4,27 g/dia/UTM. Para o híbrido BRS 1035, o maior CPB/UTM foi no estádio de maturação de grão pastoso e farináceo-duro (3,14 e 3,16 g/UTM, respectivamente) e a maior digestibilidade aparente da PB (DAPB) foi no estádio de maturação de grão pastoso (37,83%). Para o híbrido BRS 1031, o maior CPB e DAPB foram no estádio de maturação de grão pastoso (4,27 g/UTM e 47,57%, respectivamente). Para o híbrido BRS 1001 não houve diferença no CPB para os diferentes estádios de maturação. A maior DAPB foi observada no estádio de maturação de grão farináceo (40,34%). Para o híbrido de milho BRS 1035, o consumo de FDN (CFDN) e o consumo de FDA (CFDA) foram maiores no estádio de grão farináceo-duro (18,76 g/UTM e 35,24%, respectivamente). Não houve diferença na digestibilidade da FDN (DFDN) e digestibilidade da FDA (DFDA) para os diferentes estádios de maturação. Para o híbrido BRS 1031, não houve diferença no CFDN, CFDA, DFDN e DFDA para os diferentes estádios de maturação. Para o híbrido BRS 1001, os maiores CFDN e CFDA foram nos estádios de maturação de grão pastoso e farináceo-duro (34,73 e 33,73; 18,59 e 17,10, respectivamente). Não houve diferença na DFDN para os diferentes estádios de maturação. O híbrido BRS 1035 no estádio farináceo-duro apresentou melhor valor nutritivo. Os híbridos BRS 1031 e BRS 1001 apresentaram melhor valor nutricional no estádio de maturação do grão pastoso.

2.12.1. Balanço de nitrogênio

O balanço de N pode ser indicativo do metabolismo protéico animal. O balanço de N é mais eficiente que o consumo e digestibilidade da proteína para evidenciar se há perda ou não de proteínas pelo organismo (Andrighetto et al., 1990).

Para aumentar a retenção de N corporal, deve-se maximizar a síntese de proteína microbiana e reduzir as excreções de N (Broderick et al., 1991). A maximização da síntese de proteína microbiana é atingida quando a dieta apresenta quantidades suficientes de proteína degradável no rúmen (PDR) e há sincronização ruminal da degradação de proteína e carboidratos (Sniffen et al., 1992; Givens e Rulquin, 2004).

Pôssas (2013) avaliou híbridos de milho colhidos nos estádios de maturação dos grãos pastoso, farináceo e farináceo-duro, e observou que não houve diferença no N ingerido, N fecal e N urinário dos carneiros alimentados com as silagens do híbrido BRS 1035 nos três estádios de maturação. O N retido, N retido/N ingerido e N retido/UTM foram menores e negativos no estádio de maturação de grão farináceo (-0,98, -15,69 e -0,06 g/dia, respectivamente). Para o híbrido BRS 1031, não houve diferença no N ingerido, N fecal e N retido, N retido/ingerido e N retido/UTM. Para o híbrido BRS 1001 não houve diferença no N ingerido, N urinário. O N fecal foi menor no estádio de maturação de grão farináceo (5,66 g/dia). Já o menor N retido/UTM (-1,42 g/dia) foi obtido pelos carneiros alimentados com forrageira ensilada no estádio de maturação de grão farináceo-duro.

2.13. Partição energética dos alimentos

Desde o início das pesquisas que investigaram o valor energético dos alimentos ocorreram avanços que permitiram desenvolver um esquema lógico que descrevesse o fluxo da energia dos alimentos no metabolismo animal. Esta sequência de transformações da energia dos alimentos após ser ingerida é denominada partição energética dos alimentos.

A energia liberada após a combustão completa de uma substância em bomba calorimétrica é denominada energia bruta (EB). A EB é a energia liberada como calor quando os alimentos são completamente oxidados à dióxido de carbono (CO₂) e água (Resende et al., 2011). A EB varia com a composição bromatológica dos alimentos. A combustão completa da glicose pode gerar 3,7 Mcal/kg, da celulose 4,2 Mcal/kg, do óleo vegetal 9,3 Mcal/kg e das proteínas 5,6 Mcal/kg (Lawrence e Fowler, 2002). A maioria das gramíneas possuem valores de EB de aproximadamente 4,2 Mcal/kg, no entanto, as digestibilidades podem ser muito

diferentes. Essa discrepância torna a EB pouco representativa quanto ao valor nutritivo dos alimentos (Kleiber, 1961).

Nem toda energia consumida é aproveitada pelo animal. A EB das fezes subtraída da EB ingerida origina a energia aparentemente digestível (ED). As fezes dos animais não são constituídas somente por resíduos indigestíveis dos alimentos, mas também por material celular endógeno, secreções glandulares e bactérias de origem ruminal. Parte da proteína das fezes é originária da proteína microbiana, assim como parte dos carboidratos e lipídeos (Blaxter, 1962).

Nas dietas dos ruminantes a perda de energia nas fezes representa de 10 a 70% da EB ingerida (Blaxter, 1962). Menores perdas fecais estão associadas com altas concentrações de carboidratos não fibrosos, como açúcares, amido e frutanas. Maiores perdas fecais estão associadas com altas concentrações de carboidratos fibrosos e ligninas (Van Soest, 1994).

A energia absorvida no intestino corresponde a ED, subtraindo-se a energia perdida na urina (compostos absorvidos e não utilizados, produtos finais de processos metabólicos e endógena) e dos gases (fermentação pelos microrganismos ruminais) tem-se a energia metabolizável (EM) (Resende et al., 2011).

Segundo o NRC (2001), a EM é a energia efetivamente disponível para o metabolismo do animal. Em média a EM corresponde a aproximadamente 82% da ED, no entanto, varia com a dieta e espécie (bovinos: 0,81; ovinos: 0,73 e caprinos: 0,86) (Resende et al., 2011). A EM é utilizada pelo animal para manutenção e produção (carne, leite, etc.).

A EM para manutenção representa a produção de calor do animal alimentado, mas que não apresenta ganho de peso e modificações na composição corporal, incluindo calor de regulação térmica, calor de atividade muscular, calor despendido para processos metabólicos básicos, e incremento calórico (IC) (Resende et al., 2011).

O IC dos alimentos ou dietas é calculado pela diferença entre a produção de calor do animal alimentado e em jejum. A produção de calor em jejum (estado pós absortivo) corresponde ao metabolismo basal, pois esse parâmetro retratar a produção de calor do animal mantido em ambiente termoneutro com um mínimo de atividade (Lawrence e Fowler, 1997). Para determinar quando o ruminante está em estado pós-absortivo, um dos critérios utilizados é a ausência de produção de metano (CH₄), o que geralmente acontece de 48 a 144 horas após a alimentação. Nesse estado, o quociente respiratório é próximo de 0,7, o que reflete o catabolismo das reservas de gordura corporal (Resende et al., 2011).

O IC corresponde a produção de calor decorrente da metabolização dos alimentos e transformação dos nutrientes. O IC depende do consumo e composição dos alimentos. O IC

aumenta com o aumento do consumo, devido aos processos de digestão e transporte da digesta no trato digestivo requererem energia (Resende et al., 2011). As forragens proporcionam maiores perdas de energia como IC comparado aos concentrados (Johnson et al., 2003), pois a conservação da energia durante a produção de ácido acético é menos eficiente comparada a produção de propionato. Segundo Kleiber (1961), para alimentos concentrados o IC varia de 15% a 25% da EM, enquanto para as forragens a variação é de 35% a 60% da EM.

Caso a EM consumida seja suficiente para atender os requisitos energéticos para o metabolismo basal e o IC, considera-se que a energia retida (ER) pelo animal é nula ou positiva. Se a ER for negativa o alimento ou dieta avaliado não atende às exigências de manutenção. Portanto, o animal estará em catabolismo de tecidos para suprir as demandas energéticas (Resende et al., 2011).

A energia líquida (EL) é a energia utilizada para a retenção de substâncias nos tecidos e produtos (crescimento, produção, gestação, etc.), além da manutenção. A EL dos alimentos varia com a espécie animal, condição fisiológica do animal e finalidade de utilização da energia (manutenção ou ganho) (Kleiber, 1961).

Alguns termos podem ser utilizados para avaliar a eficiência de utilização da energia. O problema do uso do Sistema de Energia Líquida para descrever o balanço energético tem sido para animais em manutenção, porque não há um produto a ser mensurado, além da produção de calor. Assim, as perdas de calor resultantes de reações bioquímicas ineficientes não podem ser diferenciadas da utilização da energia para manutenção (Van Soest, 1994). Esse problema é parcialmente resolvido a partir da mensuração da produção de calor (PC) em jejum, o qual é resultado da metabolização dos tecidos corporais para suprir a energia necessária para manter o animal. Os sistemas utilizam a produção de calor em jejum como base para estimar a exigência de EL para manutenção ($EL_m = PC_{\text{jejum}}$).

A metabolizabilidade (q) é definida como a relação entre a EM e a EB do alimento ou dieta, ou seja, é o percentual de energia consumida que não foi perdido nas fezes, urina e CH_4 . Quando o animal está consumindo em manutenção, a metabolizabilidade é representada por q_m . Quando o animal está consumindo acima das exigências de manutenção é representada por q_L , em que L é a ingestão dada em múltiplos da manutenção. Há uma relação entre a composição bromatológica do alimento e o valor de q . O aumento da concentração de fibra resulta em queda do valor de q (Resende et al., 2011).

A eficiência de utilização da energia metabolizável (K) representa a eficiência com que a EM será transformada em EL. A eficiência de utilização da EM para manutenção é expressa

como K_m , a qual é igual a EL_m/EM_m , enquanto a eficiência de utilização da energia no tecido pode ser expressa como $K_g = EL_g/EM - EM_m$. A eficiência de utilização das funções combinadas pode ser expressa como:

$$K_{m+p} = \frac{EL_m + EL_p}{EM_{m+p}}$$

Em que:

EL_m : EL para manutenção,

EL_p : EL para produção,

EL_{m+p} : EM requerida para manutenção mais produção.

A K_{m+p} varia com a concentração de EM do alimento ou dieta, produção do animal e para que será utilizada (lactação, crescimento, gestação, etc.) (Resende et al., 2011).

2.13.1. Calorimetria

A quantificação da produção de calor pelos organismos vivos torna-se possível porque de acordo com as leis da termodinâmica e a lei de Hess, a energia não pode ser criada nem destruída, apenas transformada; todas as formas de energia podem a ser convertidas em calor, e que o calor gerado em uma transformação é independente dos caminhos da conversão. Portanto, a calorimetria mensura o calor produzido pelo organismo, o qual pode ser medido de duas maneiras. Por métodos físicos que medem diretamente as variações na temperatura dos corpos utilizando calorímetros, denominada de calorimetria direta. Pela calorimetria indireta ou respirometria, em que a quantificação de calor é determinada por meio do consumo de oxigênio (O_2) e produção de CO_2 e CH_4 (Diener, 1997).

2.13.1.2. Respirometria

A respirometria é uma metodologia que determina as necessidades nutricionais e a taxa de utilização dos substratos energéticos a partir do consumo O_2 e da produção de CO_2 e CH_4 , além do N contido na urina. Portanto, a produção de calor é mensurada por meio da relação entre a produção de CO_2 e o consumo de O_2 (CO_2/O_2), denominada quociente respiratório. Os

quocientes respiratórios de carboidratos, proteínas e gordura são 1,0; 0,8 e 0,7 respectivamente. (Resende et al., 2011).

Os sistemas de respirometria são classificados em sistema de circuito fechado ou aberto. Nos sistemas de circuito fechado a única entrada de ar é a proveniente de cilindros contendo O₂. Assim, à medida que o animal consome O₂ e produz CO₂ e CH₄ as concentrações desse primeiro são mantidas por injeções do gás do cilindro. O ar do interior da câmara é captado por uma bomba e circula por recipientes contendo reagente capaz de absorver o CO₂. Nesse sistema, as quantidades de O₂ consumida e CO₂ produzida são determinadas pela pesagem do recipiente com absorvente de CO₂ (hidróxido de sódio ou potássio) e do cilindro de O₂, respectivamente. Portanto, as leituras para mensuração dos gases são limitadas pelos períodos de avaliação (Silva, 2011). O metano é determinado pela retirada de amostras de ar sobre caolim platinizado aquecido ao rubro, podendo também ser estimado por meio de fórmulas matemáticas (Resende et al., 2011).

No sistema de respirometria de circuito aberto é analisado na entrada e saída das câmaras por equipamentos que determinam as concentrações de O₂, CO₂ e CH₄. Portanto, o consumo de O₂ e as produções de CO₂ são calculados baseados nas diferenças entre a composição de entrada e saída do ar (Kleiber, 1961). As perdas de calor decorrentes da produção de CH₄ e excreção de compostos nitrogenados, como a ureia na urina são consideradas. Assim, a equação sugerida para o cálculo da produção de calor pelos ruminantes é (Brouwer, 1965):

$$H \text{ (kj)} = 16,18 * O_2 \text{ (L)} + 5,02 * CO_2 \text{ (L)} - 5,99 * N_u \text{ (g)} - 2,17 * CH_4 \text{ (L)}$$

Em que:

H = produção de calor do animal em kilojoule;

N_u = teor de nitrogênio em gramas presente na urina dos animais;

A respirometria é um sistema mais complexo, que necessita de maior quantidade de equipamentos, calibração diária dos aparelhos (Silva, 2011) e utilização de fatores de correção (Rodriguez et al., 2007). No entanto, mais confiável, pois permite a realização de grande quantidade de leituras do consumo e emissão de gases pelo animal durante o período de avaliação.

A avaliação dos genótipos de milho pelos programas de melhoramento genético permite a produção de silagens de milho com maior eficiência de utilização da energia pelos animais. O critério mais adequado para expressar o valor energético dos alimentos é o sistema de EL.

Com o avanço do estágio de maturação a EL da planta de milho pode ser alterada, portanto é importante definir o melhor estágio de maturação na ensilagem.

Pôssas (2013) avaliou híbridos de milho colhidos em três estádios de maturação e observou que as fezes representaram as maiores perdas de energia em relação a EB consumida. Não houve diferença entre os tratamentos, com variação de 37,01 a 45,36%. O IC representou a segunda maior perda de energia (19,59 a 35,56%). Para as silagens do híbrido BRS 1035 houve maior perda de energia por IC no estágio de maturação do grão pastoso. Para as silagens dos demais híbridos não houve diferença entre as perdas de energia nos diferentes estádios de maturação.

2.14. Produção de metano entérico por ruminantes

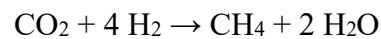
As emissões de gases de efeito estufa são relevantes, devido aos seus efeitos sobre o aquecimento global e mudanças climáticas. Os efeitos das emissões dos gases de efeito estufa sobre a vulnerabilidade ecológica e socioeconômica crescerão globalmente nos próximos anos (Patra, 2012). O gás de efeito estufa mais produzido é o dióxido de carbono (CO_2), no entanto, o CH_4 apresenta potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o CO_2 e tempo de vida na atmosfera de 9 a 15 anos, em que a taxa de crescimento anual é de 7,0% (IPCC, 2006).

Os sistemas de produção pecuária são considerados os principais emissores de gases de efeito estufa (CH_4 e óxido nitroso (N_2O)). Segundo dados do terceiro inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa do Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI, 2015), o total das emissões nacionais de CH_4 pela pecuária em 2010 foi estimado em 11.873 Gg de CH_4 , em que as emissões de 11.265 Gg de CH_4 foram atribuídas à fermentação entérica e 608 Gg de CH_4 à sistemas de manejo de dejetos animais.

A pecuária brasileira representa menos 8,3% das emissões de gases de efeito estufa no mundo (FAO, 2015). No entanto, são significativas no total nacional de gases de efeito estufa por incluírem as emissões relacionadas ao desmatamento (Silva et al., 2016). É necessário reduzir as emissões de gases de efeito estufa e tornar os sistemas pecuários mais eficientes. O desafio no sistema produtivo de ruminantes é desenvolver dietas e sistemas de manejo que minimizem a produção de CH_4 , possibilitando maior eficiência produtiva e redução da contribuição da pecuária para o aquecimento global.

O rúmen é um ecossistema microbiano complexo, diversificado, anaeróbico, onde os alimentos são fermentados à ácidos graxos voláteis (AGVs), CO_2 , hidrogênio (H_2) e CH_4 por

microrganismos (bactérias, protozoários e fungos). Os metanogênicos pertencem a um domínio separado, classificado como archaea no reino de *Euryarchaeota* e são encontradas em grande variedade de outros ambientes anaeróbicos (Liu e Whitman, 2008). A maioria dos metanogênicos no rúmen produzem energia para o seu crescimento por meio de uma série de reações de redução bioquímica de CO₂ com H₂, em que algumas metanogênicas utilizam acetato, metanol, mono-, di- e tri-metilamina para a produção de CH₄ (metanogênese). Assim, o ciclo de formação do metano a partir do CO₂ envolve a captação de quatro moléculas de H₂:



Entre os 28 gêneros e 113 espécies de metanogênicos presentes na natureza, somente sete espécies foram encontradas em culturas do ambiente ruminal: *Methanobacterium formicum*, *Methanobacterium bryantii*, *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobrevibacter millerae*, *Methanobrevibacter olleyae*, *Methanomicrobium mobile* e *Methanoculleus olentangyi*. Estudos de análises moleculares mostram que os membros da família Methanobacteriacea (incluindo *Methanobrevibacter* sp., *Methanobacterium* sp., e *Methanosphaera* sp.) são as espécies dominantes (30 a 99% de archaea) (Janssen e Kirs, 2008).

O processo de metanogênese remove o H₂, produto das fermentações, principalmente quando é produzido acetato. Os efeitos adversos do acúmulo de H₂ no rúmen incluem inibição da re-oxidação do NADH e o acúmulo de lactato ou etanol, o que proporciona redução do pH e do crescimento dos microrganismos que degradam fibra. Portanto, a formação do CH₄ possui o efeito positivo por reduzir a concentração de H₂ no rúmen, servindo como “dreno” de H₂ (Johnson e Johnson, 1995).

Com teor energético de 13,344 Kcal/g, o CH₄ representa perda significativa de energia, impactando negativamente o desempenho animal. As perdas associadas a produção diária de CH₄ são estimadas entre 5,5 e 6,5% da EB ingerida (Johnson e Ward, 1996). Entretanto, as mensurações realizadas em câmaras respirométricas mostraram grande variação nas emissões de CH₄, de 2 a 12% da EB ingerida (Johnson e Johnson, 1995).

3. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.P.; QUADROS, D.G.; BEZERRA, A.R.G. Aspectos qualitativos da silagem de capim-elefante com fubá de milho e casca de soja. *Ciências Agrárias*, v.33, n.3, p.1209-1218, 2012.
- ANDRIGUETO, J.M.; PERLY, L.; MINARD, I. et al. *Nutrição animal: Bases e os fundamentos da nutrição animal*, v.1, Rio de Janeiro: Nobel, 1990. 389p.
- ALLEN, M.S.; COORS, J.G.; ROTH, G.W. *Corn silage*. Silage Science and Technology. BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, H.J. ed. ASA, CSA, and SSSA, Madison, WI, 2003. p.547-608.
- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HEN, Y. et al. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v.28, p.261-263, 2002.
- ÁVILA, C.L.S.; MARTINS, C.E.C.B.; SCHWAN, R.F. Identification and characterization of yeasts in sugarcane silages. *Journal of Applied Microbiology*, v.109, p.1677-1686, 2010.
- BAL, M.A.; SHAVER, R.D.; SHINNERS, K.J. et al. Stage of maturity, processing, and hybrid effects on ruminal in situ disappearance of whole-plant corn silage. *Animal Feed Science and Technology*, v.86, p.83-94. 2000.
- BASTOS, M.P.V.; CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V. et al. Ingestive behavior and nitrogen balance of confined santa ines lambs fed diets containing soybean hulls. *Asian Australasin Journal Animal Science*, v.27, p.24-29, 2014.
- BELEZE, J.R.F.; ZEOULA, L.M.; CECATO, U. et al. Avaliação de cinco híbridos de milho (*Zea mays*, l.) em diferentes estádios de maturação. 1. Produtividade, características morfológicas e correlações. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, p.529-537, 2003.

BERCHIELI, T.T.; VEJA-GARCÍA, A.; OLIVEIRA, S.G. principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2011. Cap.14, p.415-438.

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.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R. et al. Estabilidade aeróbia da ração total e de silagens de capim-marandu tratadas com aditivos químicos e bacterianos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.4, p.754-762, 2007.

BLAXTER, K.L. *Energy metabolism of ruminants*. London: Hutchinson, 1962. 329p.

BOLSEN, K.K.; LIN, C.; BRENT, B.E. et al. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfafa and corn silages. *Journal of Dairy Science*, v.75, n.11, p.3066-3083, 1992.

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 Zootecnia*, v.37, suplemento especial, p.68-77, 2008.

BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science*, v.93, n.6, p.2620-2629, 2010.

BRODERICK, G.A.; WALLACE, R.J.; ORSKOV, E.R. Control of rate and extent of protein degradation. In: TSUDA, T.; KAWASHIMA, R. (Eds.). *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. 7.ed. Proceedings International Symposium on Ruminant Physiology. San Diego: Academic Press, 1991. p.541-592.

BROUWER, E. Report of sub-committee on constants and factors. Proceedings of the 3.ed Symposium on Energy Metabolism. *On Energy Metabolism*, Academic Press, London. EAAP Publ. N° 11. p.441-443, 1965.

BUXTON, D.R. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science and Tecnology*, v.59, p.37-49, 1996.

BUXTON, D.R.; O'KIELY, P. *Preharvest plant factors affecting ensiling*. Silage Science and Technology. BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, H.J, ed. ASA, CSA, and SSSA, Madison, WI, 2003. p.199-250.

CHELI, F.; CAMPAGNOLI, A.; DELL'ORTO, V. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. *Animal Feed Science and Technology*, v.183, p.1-16, 2013.

CONE, J.W.; ENGELS. F.M. The influence of ageing on cell wall composition and degradability of three maize genotypes. *Animal Feed Science and Technology*, v.40, p.331-342, 1993.

CONRAD, H.R.; PRATT, A.D.; HIBBS, J.W. Regulation of feed intake in dairy cows. I. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. *Journal Dairy Science*, v.47, n.1, 54-62, 1964.

CORREA, C.E.S.; SHAVER, R.D.; PEREIRA, M.N. et al. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.3008-3012, 2002.

COSTA, R.S. *Características agronômicas, composição química e qualidade dasilagem de doze cultivares de milho – safra 97/98*. 2000. 35p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG.

DEMINICIS, B.B.; VIEIRA, H.D.; JARDIM, J.G. et al. Silagem de milho – características agronômicas e considerações. *Revista Electrónica de Veterinária*, v.10, n.2, p.1-6, 2009.

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

DOLCI, P.; TABACCO, E.; COCOLIN, L. et al. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. *Applied and environmental microbiology*, v.77, n.21, p.7499-7507, 2011.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; VAN WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science*, v.56, p.330-343, 2001.

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

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. *Produção de Milho*. 4.ed. Guaíba: Agropecuária, 2004. p.31-54.

FERRARETTO, L.F.; SHAVER, R.D; LUCK, B.D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.3937-3951, 2018.

FERRARETTO, L.F.; SHAVER, R.D. Meta-analysis: Impact of corn silage harvest practices on intake, digestion and milk production by dairy cows. *The Professional Animal Scientist*, v.28, p.141-149, 2012.

FERREIRA, J.J. Avaliação do teor de matéria seca do milho e do estágio de maturação adequado para silagem. In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; RODRIGUES, J.A.S.; FERREIRA, J.J. *Produção e utilização de silagem de milho e sorgo*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. Cap XVII, p.429-444.

FILYA, I; SUCU, E; KARABULUT, A. The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum* applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal Industrial Microbiology and Biotechnology*, v.33, p.353-358, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/E>>. Acessado em: 15 jan. 2015.

GERLACH, K.; ROB, F.; WEIB, K. et al. 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.

GIMENES, A.L.G.; MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.B. et al. Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. *Acta Scientiarum Animal Science*, v.28, n.2, p.153-158, 2006.

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

GUIM, A.; ANDRADE, P.; SCHOCKEN, R.P.I. et al. Estabilidade aeróbica de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) emurhecido e tratado com inoculante microbiano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p.2176-2185, 2002.

HUNT, C.W.; KEZAR, W.; VINANDE, R. Yield, chemical composition, and ruminal fermentability of corn whole plant, ear, and stover as affected by maturity. *Journal of Production Agriculture*, v.2, p.357-361, 1989.

HOLMES, B.J.; MUCK, R.E. Packing bunkers and piles to maximise forage preservation. In: *Proceedings of the 6th International Dairy Housing Conference*, Minneapolis, p.16-18, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Agência IBGE: Notícias. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 12 de dezembro de 2018.

INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Emissions from livestock and manure management. In: Eggleston, H.S.; BUENDIA, L.; MIWA, K.; NGARA, T.; TABANE, K. (eds). IPCC Guidelines for national greenhouse gas inventories. Hayama: IGES, 2006. chap.10, p.747-846.

JANSSEN, P.J., KIRS, M. Structure of the archaeal community of the rumen. *Applied and Environmental Microbiology*. v.74, p.3619-3625, 2008.

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

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

JOHNSON, D.E.; WARD, G.M. Estimates of animal methane emissions. *Environmental Monitoring and Assessment*, v.42, p.133-141, 1996.

JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Methane Emissions from Cattle. *Journal Animal Science*, v.73, p.2483-2492, 1995.

JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; DAVIDSON, D. et al. Corn silage management: effects of maturity, inoculation and mechanical processing on pack density and aerobic stability. *Journal of Dairy Science*, v.85, n.2, 2002.

JOHNSON, L.; HARRISON, J.H.; HUNT, C. et al. 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.

JONES, D.I.H.; JONES, R. The effect of crop characteristics and ensiling methodology on grass silage effluent production. *Journal of Agricultural Engineering Research*, v.60, p.73-81, 1995.

KLEIBER, M. The fire of life. An introduction to animal energetics. John Wiley and Sons, Inc., New York: London, 1961. 454p.

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*, v.59, p.239-246, 2009.

KOTARSKI, S.F.; WANISKA, R.D.; THURN, K.K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *The Journal of Nutrition*, v.122, p.178-190, 1992.

KUNG, L. "Aerobic stability of silage," Proceedings of California Alfalfa & Forage. *Symposium and Corn/Cereal Silage Conference*. California, 2010.

LAUER, J. *Kernel Milkline: how should we use it for harvesting silage?* Agronomy Advice. 1999.

LAWRENCE, T.L.J.; FOWLER, V.R. *Growth of farm animals*. 2.ed. Wallingford: CAB International, 2002. 346p.

LAWRENCE, T.L.J.; FOWLER, V.R. *Growth of farm animals*. CAB International, 1997. 321p.

LEWIS, A.L.; COX, W.J.; CHERNEY, J. H. Hybrid, maturity, and cutting height interactions on corn forage yield and quality. *Agronomy Journal*, v.96, p.267-274, 2004.

LIU, Q.H.; SHAO, T.; ZHANG, J.G. Determination of aerobic deterioration of corn stalk silage caused by aerobic bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, v.183, p.124-131, 2013.

LIU, Y., WHITMAN, W.B. Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. *Annals of New York Academy of Sciences*, n.1125, p.171-189, 2008.

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

MATOS, D.S.; GUIM, A.; BATISTA, A.M.V. et al. Estabilidade aeróbica e degradabilidade da silagem de maniçoba (*Manihot* sp.) emurchecida. *Revista Brasileira de Ciência Agrárias*, v.1, p.109-114, 2006.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. *The Biochemistry of Silage*. 2nd ed. Marlow, UK: Chalcombe Publications. 1991.

MERTENS, D.R. *Regulation of forage intake*. In: Forage Quality, Evaluation, and Utilization. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI. 1994.

MINISTÉRIO DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO (MCTI). *Terceira comunicação nacional do Brasil à Convenção-Quadro Nações Unidas sobre Mudança do Clima*. Brasília: Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação, v.3, 2015.

MINSON, D.J. *Forage in ruminant nutrition*. San Diego: Academic Press, 1990. 483p.

MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira Zootecnia*, v.39, p.183-191, suplemento especial, 2010.

NGONYAMO-MAJEE, D.; SHAVER, R.D.; COORS, J.G. et al. Influence of single-gene mutations, harvest maturity and sample processing on ruminal in situ and post-ruminal in vitro dry matter and starch degradability of corn grain by ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, v.151, p.240-259, 2009.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; DIAS, F.N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1., 2001, Maringá. *Anais...* Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.127-145.

OBA, M.; ALLEN M.S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *Journal Dairy Science*, v.82, p.589-596, 1999.

OLIVEIRA, M.R.; NEUMANN, M.; JOBIM, C.C. et al. Composição morfológica e nutricional de plantas e silagens de milho em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.12, n.2, p. 183-192, 2013a.

OLIVEIRA, M.R.; NEUMANN, M.; UENO, R.K. et al. Avaliação das perdas na ensilagem de milho em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.12, n.3, p.319-325, 2013b.

ORSI, R.B.; CORRÊA, B.; POSSI, C.R. et al. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. *Journal of Stored Products Research*, v.36, p.75-87, 2000.

OWENS, F. *New technologies in forage varieties and production*. Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf., Ft. Wayne, IN. Ohio State Univ., Columbus, 2014. p.103-121.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E. HARRISON, J.H. (Ed). *Silage science and technology*. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.31-93.

PARSONS, D.J. Modelling gas flow in a silage clamp after opening. *Journal Agricultural Engineering Research*, v.50, p.209-218, 1991.

PATRA, A.K. Enteric methane mitigation technologies for ruminant livestock: a synthesis of current research and future directions. *Environmental Monitoring Assessment*, v.184, p.1929-1952, 2012.

PAZIANI, S.F.; DUARTE, A.P.; NUSSIO, L.G. et al. Características agronômicas e bromatológicas de híbridos de milho para produção de silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.3, p.411-417, 2009.

PAZIANI, S.F.; DUARTE, A.P.; NUSSIO, L.G. et al. Morphological fractions, chemical composition and in vitro fermentation characteristics of maize stover of five genotypes. *Animal*, v.2, n.12, p.1772-1779, 2008.

PEREIRA, J.L.A.R.; PINHO, R.G.V.; SOUZA FILHO, A.X. et al. Avaliação de componentes estruturais da planta de híbridos de milho colhidos em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.10, n.1, p.47-55, 2011.

PEREIRA, M.M.G.; CARVALHO, E.P.; PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v.20, n.1, 2002.

PITT, R.E.; MUCK, R.E. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. *Journal of Agricultural Engineering Research*, v.55, p.11-26, 1993.

PÔSSAS, F.P. *Valor nutritivo das silagens de três genótipos de milho (Zea mays) em três estádios de maturação*. 2013. 135p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais – Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG.

RESENDE, K.T.; TEIXEIRA, I.A.M.A.; FERNANDES, M.H.M.: *Metabolismo da energia*. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G.; *Nutrição de ruminantes*, 2.ed, 616p. Jaboticabal: Funep, 2011.

RODRIGUEZ, N.M.; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L. et al. A calorimetry system for metabolismo trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, p.495-500, 2007.

ROSSI, F.; DELLAGLIO, F. Quality of silages from Italian farms as attested by number and identity of microbial indicators. *Journal of Applied Microbiology*, v.103, p.1707-1715, 2007.

ROW, C.A.; BONDURANT, R.G.; WATSON, A.K. et al. *Effect of corn plant maturity on yield and nutrient quality of corn plants, 2-year summary*. Nebraska Beef Cattle Rep. MP103: 79-80. University of Nebraska, Lincoln, 2016.

RUSSELL, J.B.; WILSON, D.B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH?. *Journal of Dairy Science*, v.79, p.1503-1509, 1996.

SALAZAR, D.R.; STABILE, S.S.; GUIMARÃES, P.S. et al. Valor nutritivo do colmo de híbridos de milho colhidos em três estádios de maturidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.45, n.7, p.758-766, 2010.

SANTOS, A.O.; ÁVILA, C.L.S.; SCHWAN, R.F. Selection of tropical lactic acid bacteria for enhancing the quality of maize silage. *Journal of Dairy Science*, v.96, n.12, 2013.

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

SILVA, R.O.; BARIONI, L.G.; HALL, J.A.J. et al. Increasing beef production could lower greenhouse gas emissions in Brazil if decoupled from deforestation. *Nature Climate Change*, v.6, p.493-498, 2016.

SILVA, R.R. *Respirometria e determinação das exigências de energia e produção de metano de fêmeas bovinas leiteiras de diferentes genótipos*. 2011. 60p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

SILVA, R.R.; MAGALHÃES, A.F.; CARVALHO, G.G.P. et al. Comportamento ingestivo de novilhas mestiças de holandês suplementadas em pastejo de *Brachiaria decumbens*. Aspectos metodológicos. *Revista Eletrônica de Veterinária*, v.5, n.10, p.1-7, 2004.

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

TABACCO, E.; PIANO, S.; CAVALLARIN, L. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *Journal of Applied Microbiology*, v.107, p.1632-1641, 2009.

TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A. et al. 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.

TOMICICH, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C. et al. *Documento 56: Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificar sua fermentação*. Corumbá: Embrapa, 20p., 2003.

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

VEIGA, I.R.F.M. *Avaliação agrônômica e valor nutritivo das silagens e do rolão de três híbridos de milho colhidos em quatro estádios de maturação*. 2008. 82p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

VILELA, H.H.; REZENDE, A.V.; VIEIRA, P.F. et al. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de maturação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.7, p.1192-1199, 2008.

WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage, *Microbiology Reviews*, v.19, p.53-68, 1996.

WILKINSON. J.M.; DAVIES, D.R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, v.68, p.1-19, 2012.

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L.G.; MARI, L.J. et al. Alterações na composição morfológica em função do estágio de maturação em cultivares de milho para produção de silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.3, p.452-461, 2009a.

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. et al. Relações biométricas entre o estágio de maturação e a produtividade de híbridos de milho para produção de silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.2, p.256-264, 2009b.

ZOPOLLATTO, M.; PRATTI, J.L.; NUSSIO, L.G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, p.170-189, 2009c.

4. ARTIGO

Perfil fermentativo, perdas de silagem, estabilidade aeróbia e caracterização microbiológica de silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

Naiara Taís Alves da Silva¹, Lúcio Carlos Gonçalves¹, José Avelino Santos Rodrigues², Kelly Moura Keller³, Fabiana Paiva Coelho Santos¹, Diogo Gonzaga Jayme¹

¹Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA – Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

As empresas de melhoramento genético vegetal disponibilizam no mercado, anualmente, vários genótipos de milho para a produção de silagens. O estádio de maturação desses genótipos de milho deve ser avaliado, pois influencia o teor de matéria seca, proporções dos constituintes da planta, processo fermentativo e, por consequência, a produtividade e valor nutritivos das silagens. O híbrido de milho BRS 3042 foi ensilado nos estádios de maturação sem linha de leite (24,56% MS), ¼ linha de leite (29,10% MS), ¾ linha de leite (38,78% MS) e grão cheio (45,74% MS). Objetivou-se determinar o melhor estádio de maturação para ensilagem desse híbrido de milho. As maiores perdas por efluentes e perdas totais de matéria seca foram na forrageira ensilada no estádio de maturação sem linha de leite (47,84 kg/t MN e 5,50 kg/t MS, respectivamente). O pH foi adequado em todos os estádios de maturação. O N-NH₃/NT aumentou com o avanço do estádio de maturação. O ácido láctico predominou entre os ácidos orgânicos e foi maior na forrageira ensilada no estádio de maturação sem linha de leite (11,85% MS). A contagem de microrganismos aumentou após a perda de estabilidade aeróbia em todas as silagens. Considerando-se o processo fermentativo e o valor nutricional, o melhor estádio de maturação para ensilagem do híbrido de milho BRS 3042 é sem linha de leite.

Palavras-chave: fermentação, microbiologia, silagem de milho.

ABSTRACT

The plant breeding companies make several corn genotypes available on the market each year for silage production. The maturation stage for ensilage of these corn genotypes must be evaluated, as it influences the DM content, proportion of the plant constituents, fermentation process, chemical composition and, consequently, the productivity and nutritional value of the silages. The BRS 3042 corn hybrid was ensiled at maturation stages with grains without milk line (24.56% DM), ¼ milk line (29.10% DM), ¾ milk line (38.78% DM) and full grain (45.74% DM). The objective was to determine the best maturation stage for ensilage of this corn hybrid. The highest effluent losses and total dry matter losses were in the forage ensiled at the maturation stage without milk line (47.84 kg/t NM and 5.50 kg/t DM, respectively). The pH was adequate in all silages. The N-NH₃/NT increased with the advance of the maturation stage. Lactic acid predominated among organic acids and was higher in forage ensiled at the maturation stage without milk line (11.85% DM). The microorganism count increased after the loss of aerobic stability in all silages. Considering the fermentation process and nutritional value, the best maturation stage for ensilage of the BRS 3042 corn hybrid is without milk line.

Key-words: fermentation, microbiology, corn silage.

INTRODUÇÃO

As empresas de melhoramento genético vegetal disponibilizam no mercado, anualmente, vários genótipos de milho para a produção de silagens. O estágio de maturação desses genótipos de milho deve ser avaliado (Ferraretto et al., 2018), pois influencia o teor de matéria seca, proporções dos constituintes da planta, processo fermentativo e, por consequência, a produtividade e valor nutritivos das silagens.

As variações nas recomendações de estágio de maturação na ensilagem demonstram efeitos inerentes aos genótipos de milho, condições edafoclimáticas e práticas agrícolas. Objetivou-se determinar o melhor estágio de maturação para ensilagem do híbrido de milho BRS 3042.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantio e ensilagem

O híbrido de milho BRS 3042 foi cultivado na área experimental do CNPMS da EMBRAPA, localizado no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19°28'S, longitude 44°15'W e altitude de 732 metros). No dia 03/02/2014 foram plantados 5 canteiros (parcela de campo) para cada estágio de maturação avaliado. O espaçamento utilizado foi de 70 cm entrelinhas e a adubação de plantio foi de 400 kg de 08-28-16 (NPK) + 0,5% Zn por ha. Trinta e cinco dias após o plantio, foi aplicado 100 kg de N/ha em cobertura. A colheita das parcelas foi realizada aos 91, 98, 105 e 112 dias após o plantio, em que os grãos estavam nos estádios de maturação sem (zero) linha de leite, ¼ linha de leite, ¾ linha de leite e grão cheio (24,56; 29,10; 38,78 e 45,74% de MS da planta inteira), respectivamente.

A lavoura foi colhida e picada a dois cm e ensilada em dois tipos de recipientes: baldes plásticos de 20 L vedados hermeticamente com tampas que possuíam válvulas tipo Bulsen, além de um saco de algodão com areia ao fundo do balde (mini-silos), que foram utilizados na avaliação do perfil fermentativo e qualidade da silagem, e tambores metálicos de 200 L (silos experimentais) revestidos internamente com sacos de polietileno, que foram utilizados nos ensaios de estabilidade aeróbia e caracterização microbiológica.

Perdas de silagem e perfil fermentativo

Os mini-silos foram abertos aos 1, 3, 5, 7, 14, 28 e 56 dias após a ensilagem. Foram determinadas as perdas por produção de gases, produção de efluentes e perda total de MS para cada tempo abertura dos silos experimentais.

A determinação das perdas por produção de gases (PG) foi calculada pela diferença entre o peso inicial do material ensilado e o peso final, conforme a fórmula:

$$PG = \frac{[(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pen) * MSab]}{[(PCen - Pen) * MSen]} \times 100$$

Em que:

PG = Perdas por gases em (g/100 g de MS);

PCen = Peso do balde cheio na ensilagem (kg);

Pen = Peso do conjunto (balde + tampa + areia seca + saco) na ensilagem (kg);

MSen = Teor de MS da forragem na ensilagem (g/kg);

PCab = Peso do balde cheio na abertura (kg);

MSab = Teor de MS da forragem na abertura (g/kg);

A perda por efluentes (PE) foi calculada pela diferença do conjunto areia e saco antes e depois da ensilagem, conforme a fórmula:

$$PE = \frac{P_{ef} \times 1000}{MV_i}$$

Em que:

PE = perdas por efluentes (kg/t de MV);

P_{ef} = peso dos efluentes (peso do conjunto vazio após a abertura – peso do conjunto vazio antes do enchimento, kg);

MV_i = quantidade de massa verde de forragem ensilada (kg);

A perda total de matéria seca foi calculada pela diferença entre o peso bruto de massa seca inicial e final dos mini-silos em relação à quantidade de massa seca ensilada, descontados o peso do conjunto na ensilagem e na abertura, conforme a fórmula:

$$PT = \frac{[(PC_{en} - P_{en}) * MS_{en}] - [(PC_{ab} - P_{ab}) * MS_{ab}]}{[(PC_{en} - P_{en}) * MS_{en}]} \times 100$$

Em que:

PT = Perda total de MS (g/100 g de MS);

P_{ab} = Peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura (kg).

Nas aberturas dos mini-silos, amostras foram retiradas e os sucos das silagens foram extraídos por meio da compressão em prensa hidráulica. O pH foi medido diretamente do suco das silagens utilizando-se pHmetro digital (Hanna Instruments, HI 221, Ronchi di Campanile Villafranca Padovana, IT). O nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total (N-NH₃/NT) foi determinado pela destilação do suco conforme descrito por Bolsen et al. (1992). Os ácidos láctico, acético, propiônico e butírico, foram quantificados utilizando cromatógrafo (Shimadzu, CG – 17A, Kyoto, JP), equipado com detector FID. Para registro e análise dos

cromatogramas, o aparelho foi acoplado a um microcomputador equipado com o programa GC Solution. Os compostos foram separados e identificados em uma coluna capilar Nukol (30 m x 0,25 mm). Para a separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL (Hamilton®) em sistema Split = 5. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador (43,2 cm/s) e os gases hidrogênio e ar sintético formaram a chama no detector. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C, e aumentou até atingir 185°C. O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,0 mL/minuto.

As amostras dos mini-silos abertos no 56º dia após a ensilagem foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas a 1 mm e utilizadas para a determinação do teor de matéria seca (MS) em estufa a 105°C; matéria mineral (MM) (AOAC, 1990); proteína bruta (PB) (AOAC, 1990); extrato etéreo (EE), pelo processo Soxlet (AOAC, 1995); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN); fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e ligninas pelo método sequencial (Van Soest et al. 1991), utilizando analisador de fibras Ankom²⁰⁰ (Ankom Technology Corporation, Fairport, New York, USA). A enzima amilase termoestável (Termamyl 2x, Novozymes A/S, Krogshoejvej, Bagsvaerd, DK) foi adicionada na proporção de 0,5 mL por amostra durante as análises de FDN. Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de PB para obtenção dos valores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), respectivamente. Os valores de PIDN e a MM do resíduo da análise de FDN foram utilizados para corrigir a FDN para cinzas e proteína (FDNcp); carboidratos não fibrosos (CNF) pela equação $CNF = 100 - (\%FDNcp + \%PB + \%EE + \%MM)$ (Tabela 1).

Tabela 1. Médias dos valores de composição bromatológica das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação no 56º dia após a ensilagem¹

	Linha de Leite			
	0	¼	¾	1
Matéria seca	25,66	29,76	38,45	45,40
Matéria mineral	4,19	4,15	4,18	3,85
Proteína bruta (PB)	6,83	6,90	7,05	6,98
FDN ²	58,49	53,08	51,47	53,33
FDNcp ³	55,91	49,59	48,37	49,41
FDA ⁴	34,41	30,30	29,42	30,65
Ligninas	4,82	3,99	3,94	4,05
PIDN/PB ⁵	24,14	20,87	21,14	21,30
PIDA/PB ⁶	10,35	8,94	8,50	9,13
Extrato etéreo	1,96	2,10	2,02	2,47
CNF ⁷	31,11	37,27	37,88	37,28

¹% da matéria seca; ²FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; ³FDNcp: Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; ⁴FDA: Fibra insolúvel em detergente ácido; ⁵PIDN: Proteína insolúvel em detergente neutro (%PB); ⁶PIDA: Proteína insolúvel em detergente ácido (%PB); ⁷CNF: Carboidratos não fibrosos.

Estabilidade aeróbia

Na abertura dos silos experimentais foram retiradas amostras para determinação de pH, nitrogênio amoniacal e AGVs, conforme descrito anteriormente. Amostras com peso de 3 kg das silagens foram acondicionadas em baldes plásticos equipados com termômetros de mercúrio analógico para estufas (Equitherm, TAE-110, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, BR) inserido a 10 cm no centro da massa de silagem. Os baldes foram cobertos com papel alumínio para proteger as silagens de contaminações do ambiente, mas permitiram que o ar entrasse em contato com as silagens. O material foi monitorado por 240 horas, por aferição da temperatura do material a cada 12 horas, em ambiente controlado ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e 65% URA) até a perda da estabilidade aeróbia, caracterizada pelo tempo (h) necessário para a elevação da temperatura das silagens em 2°C em relação a temperatura ambiente, e por meio da temperatura ($^\circ\text{C}$) máxima e o tempo necessário (h) para atingir a temperatura máxima (McEniry et al., 2007). A taxa de aquecimento foi obtida dividindo o valor da temperatura máxima pelo tempo gasto para atingi-la (Ruppel et al., 1995).

Contagem e caracterização microbiológica

A contagem de microrganismos (fungos, leveduras e bactérias aeróbias) foi realizada na abertura dos silos experimentais e após a perda de estabilidade aeróbia. Foi utilizado o método de diluição em placas. Vinte e cinco gramas de silagem foram diluídos em 225 mL de água peptonada a 0,1% (0,1 g de peptona por litro de água destilada) e a mistura agitada durante cinco minutos. Para cada amostra, uma diluição serial apropriada (10^{-2} a 10^{-5} para abertura dos silos experimentais e 10^{-5} a 10^{-8} para perda de estabilidade) foi feita em tubos contendo 9 mL de solução peptonada 0,1% estéril. Para cada diluição, 0,1 mL foi retirado e semeado em placas de Petri, e o inóculo foi espalhado na superfície do meio de cultura com alça de vidro (Drigalski). A contagem total de bactérias foi determinada aerobicamente utilizando o meio de cultura ágar contagem padrão (PCA), após a incubação por 1 a 3 dias à $36 \pm 1^\circ\text{C}$. A contagem total de leveduras foi determinada utilizando-se o meio de cultura triptona glicose extrato de levedura ágar (TGY), após a incubação aeróbia por 1 a 3 dias à $30 \pm 1^\circ\text{C}$. A contagem total de fungos foi determinada utilizando-se o meio de cultura dicloram rosa de bengala cloranfenicol

ágar (DRBC), após a incubação aeróbia por 5 a 7 dias à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Todas as placas foram examinadas diariamente para os tipos de colônias típicas e as características morfológicas associadas com cada meio de cultura. Todas as placas foram examinadas diariamente para tipos típicos de colônia e características morfológicas associadas a cada meio de crescimento. As contagens totais de microrganismos foram expressas como unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

Os resultados fúngicos foram expressos como frequência de isolamento (% das amostras em que cada gênero estava presente) e densidade relativa (% de isolamento de cada espécie entre as linhagens do mesmo gênero). A identificação de gênero dos fungos foi realizada de acordo com Pitt e Hocking (2009) e Samson et al. (2000). As colônias fúngicas identificadas como *Aspergillus* foram mantidas em malt extract ágar (MEA) para posterior identificação de espécies. As cepas de fungos pertencentes a esses gêneros foram então identificadas de acordo com apropriada chave taxonômica (Klich, 2002).

As bactérias aeróbicas foram subcultivadas (24 h) em ágar Mueller Hinton (MH) e as leveduras em MEA para identificação de gênero e espécie. A identificação destes microrganismos foi realizada com *matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight* (MALDI-TOF) assistida por matriz usando MALDI Biotyper (Bruker Daltonics). A preparação da amostra foi realizada de acordo com os protocolos de Bruker usando dois métodos: (I) transferência direta (DT), e (II) extração *ethanol (EtOH)-formic acid* (FA). No método DT, um esfregaço fino de material biológico foi colocado em uma placa alvo, a qual foi imediatamente coberta com 1 μL de *alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acid matrix solution* (HCCA) (Bruker Daltonics, Germany), preparada de acordo com o método do fabricante. No método EtOH-FA, as colônias individuais foram selecionadas e suspensas em um pequeno volume de etanol a 70% (inativação microbiana), brevemente agitadas em vórtex, e depois concentradas por centrifugação. O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 50 μL de ácido fórmico a 70% (ruptura da parede celular), foi adicionado um volume igual de acetonitrilo (extração de proteína), a amostra foi centrifugada e novamente concentrada por centrifugação. Um microlitro do sobrenadante com as proteínas extraídas foi colocado na placa alvo, deixado a evaporar até quase secar e depois colocado 1 μL de solução de HCCA.

A composição bromatológica e características da fermentação das silagens foram avaliadas antes dos ensaios de estabilidade aeróbia e contagem e caracterização microbiológica (Tabela 2).

Tabela 2. Produtividade, composição bromatológica e características da fermentação das silagens utilizadas nas avaliações de estabilidade aeróbia e contagem microbiológica¹

	Linha de Leite				EPM ¹¹	P ¹²	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ¹³	Q ¹⁴
PMS ²	16,08	17,76	17,63	16,70	1,50	NS	-	-
Matéria seca	26,18	27,25	36,16	44,45	0,89	<0,0001	<0,0001	0,0009
Proteína bruta (PB)	7,41	7,54	7,42	7,42	0,17	NS	-	-
FDN ³	55,72	49,70	51,35	51,51	0,76	<0,0001	0,0014	0,0002
FDNcp ⁴	52,91	46,98	48,60	48,86	0,76	0,0001	0,0022	0,0003
FDA ⁵	34,88	30,77	30,27	30,34	0,49	<0,0001	<0,0001	0,0004
Ligninas	2,99	2,73	2,81	2,97	0,16	NS	-	-
PIDN/PB ⁶	20,92	18,54	21,25	19,47	0,86	NS	-	-
PIDA/PB ⁷	8,97	8,82	8,96	8,42	0,39	NS	-	-
Extrato etéreo	2,00	2,13	1,70	1,60	0,14	0,0395	0,0148	NS
CNF ⁸	32,83	38,79	37,86	37,92	0,99	0,0004	0,0010	0,0018
Amido	22,31	28,48	34,01	31,89	0,99	<0,0001	<0,0001	0,0007
Matéria mineral	4,84	4,55	4,42	4,20	0,08	0,0006	<0,0001	NS
Cálcio	0,31	0,29	0,30	0,29	0,01	NS	-	-
Fósforo	0,1864	0,2104	0,2139	0,2092	0,0027	<0,0001	<0,0001	<0,0001
DIVMS ⁹	67,05	66,02	66,22	64,59	1,40	NS	-	-
pH	3,79	3,84	3,96	4,13	0,02	<0,0001	<0,0001	0,0090
N-NH ₃ /NT ¹⁰	1,84	2,40	3,99	5,74	0,11	<0,0001	<0,0001	<0,0001

¹% da matéria seca; ²PMS: Produtividade de matéria seca (t/ha); ³FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; ⁴FDNcp: Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; ⁵FDA: Fibra insolúvel em detergente ácido; ⁶PIDN: Proteína insolúvel em detergente neutro (%PB); ⁷PIDA: Proteína insolúvel em detergente ácido (%PB); ⁸CNF: Carboidratos não fibrosos; ⁹DIVMS: Digestibilidade *in vitro* da matéria seca; ¹⁰N-NH₃/NT: Nitrogênio (N) amoniacal em relação ao N total; ¹¹Erro padrão da média; ¹²Significância; ¹³Linear; ¹⁴Quadrático.

Análises estatísticas

Nas análises estatísticas de composição bromatológica, estabilidade aeróbia e caracterização microbiológica foi utilizado modelo misto em procedimento “PROC MIXED” do SAS[®]. Delineamento de blocos ao acaso com quatro estádios de maturação e cinco repetições, em que o tratamento foi efeito fixo e o bloco efeito aleatório, segundo o modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$

Em que:

Y_{ij} = valor referente à observação do estádio de maturação i no bloco j ;

μ = média geral;

T_i = efeito fixo do tratamento i ($i = 0, \frac{1}{4}, \frac{3}{4}, 1$);

B_j = efeito aleatório do bloco j ($j = 1, 2, 3, 4, 5$);

e_{ij} = erro aleatório associado à observação.

Nas análises estatísticas de perdas de silagem e perfil fermentativo foi utilizado modelo misto em procedimento “PROC MIXED” do SAS[®]. A relação entre as variáveis dependentes Y e independentes X foram descritas utilizando regressão, segundo o modelo estatístico: $Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \beta_3 X_i^3 + e_i$

Em que:

Y_i = observação i da variável dependente Y;

X_i = observação i da variável independente X;

$\beta_0, \beta_1, \beta_2$ e β_3 = parâmetros da regressão

e_i = erro aleatório associado à observação.

Polinômios ortogonais foram usados para determinar se o estágio de maturação resultou em efeito linear, quadrático ou cúbico sobre os parâmetros medidos. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. De acordo com as necessidades, foram realizadas correlações de Pearson entre as variáveis estudadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença na perda de estabilidade aeróbia das silagens. A temperatura máxima das silagens aumentou 15,11% até o estágio de maturação de $\frac{3}{4}$ linha de leite e diminuiu 17,76% no estágio de maturação grão cheio, comparado ao estágio de maturação de $\frac{3}{4}$ linha de leite (Tabela 3).

Tabela 3. Temperaturas observadas durante a avaliação da estabilidade aeróbia das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

	Linha de Leite				EPM ⁶	P ⁷	Efeito	
	0	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	1			L ⁸	Q ⁹
$^{\circ}\text{Ct}.0^1$	24,10	22,60	24,40	23,20	0,42	0,0030	NS	NS
t. $^{\circ}\text{C}$ máx ²	31,10	30,30	35,80	30,40	1,04	0,0048	NS	0,0419
t. 2°C ³	100,80	103,20	93,60	45,60	18,40	NS	-	-
h.t. $^{\circ}\text{C}$ máx ⁴	124,80	146,40	153,60	146,40	20,33	NS	-	-
$^{\circ}\text{C}/\text{hora}$ ⁵	0,0835	0,0517	0,0791	0,0534	0,018	NS	-	-

¹ $^{\circ}\text{Ct}.0$: Temperatura inicial; t. $^{\circ}\text{C}$ máx: Temperatura máxima; t. 2°C : Horas necessárias para elevação da temperatura das silagens acima de 2°C em relação a temperatura ambiente; h.t. $^{\circ}\text{C}$ máx: Horas necessárias para a elevação da temperatura das silagens até a temperatura máxima; $^{\circ}\text{C}/\text{hora}$: Elevação da temperatura por hora até a temperatura máxima (taxa de aquecimento); ⁶Erro padrão da média; ⁷Significância; ⁸Linear; ⁹Quadrático.

A maior perda foi por efluentes (PE), determinante na perda total de matéria seca (PTMS). Em todos os estádios de maturação houve aumento na PE, perda por gases (PG) e PTMS com o avanço dos dias após a ensilagem. O estágio de maturação sem linha de leite obteve a maior PE (47,84 kg/t MN), PG (0,7145% MS) e PTMS (5,50 kg/t MS) no final do 56º dia após a ensilagem (Gráfico 1, 2 e 3). Esses resultados ocorreram devido o menor teor de matéria seca (MS) dessa forrageira na ensilagem (24,56% MS). Forrageiras ensiladas com maior teor de umidade são susceptíveis à compactação, que proporciona o rompimento da membrana das células e vazamento do conteúdo celular, que resulta em perdas de nutrientes e, por consequência, redução no valor nutritivo (Rabelo et al., 2012).

O estágio maturação grão cheio obteve a menor PE (3,74 kg/t MN) e PTMS (1,03 kg/t MS) no 56º dia após a ensilagem (Gráfico 1 e 3), em razão do maior teor de MS dessa forrageira na ensilagem (45,74% MS).

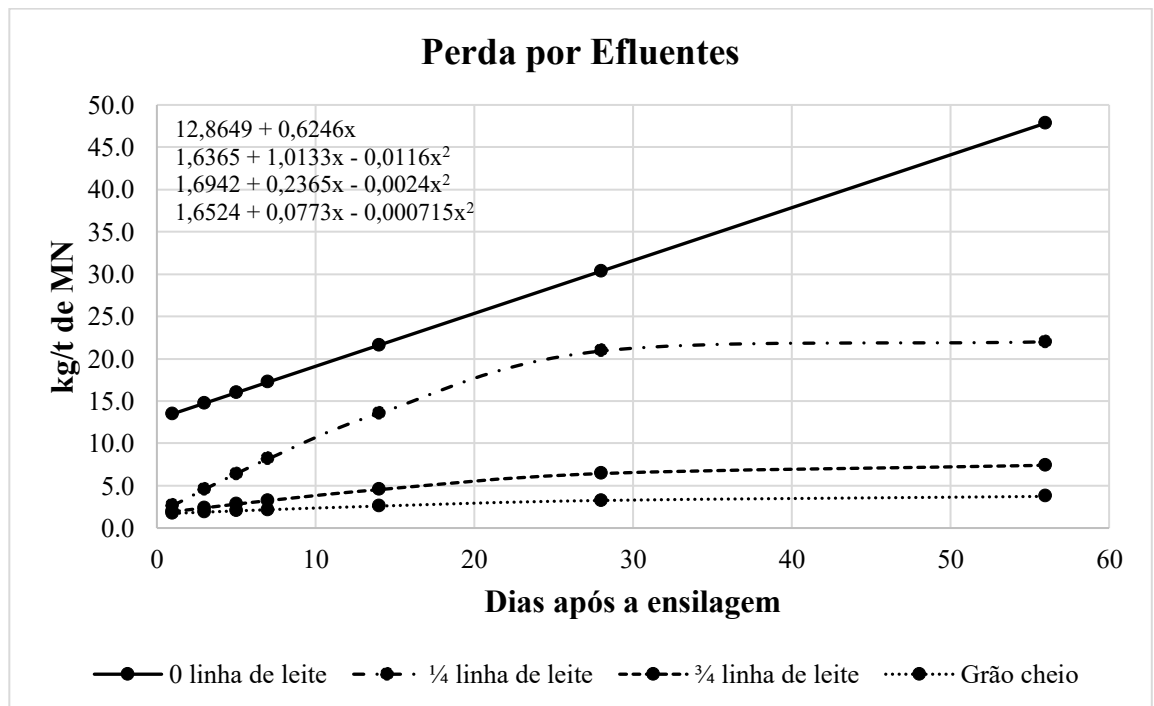


Gráfico 1. Perdas por efluentes (kg/t de MS) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

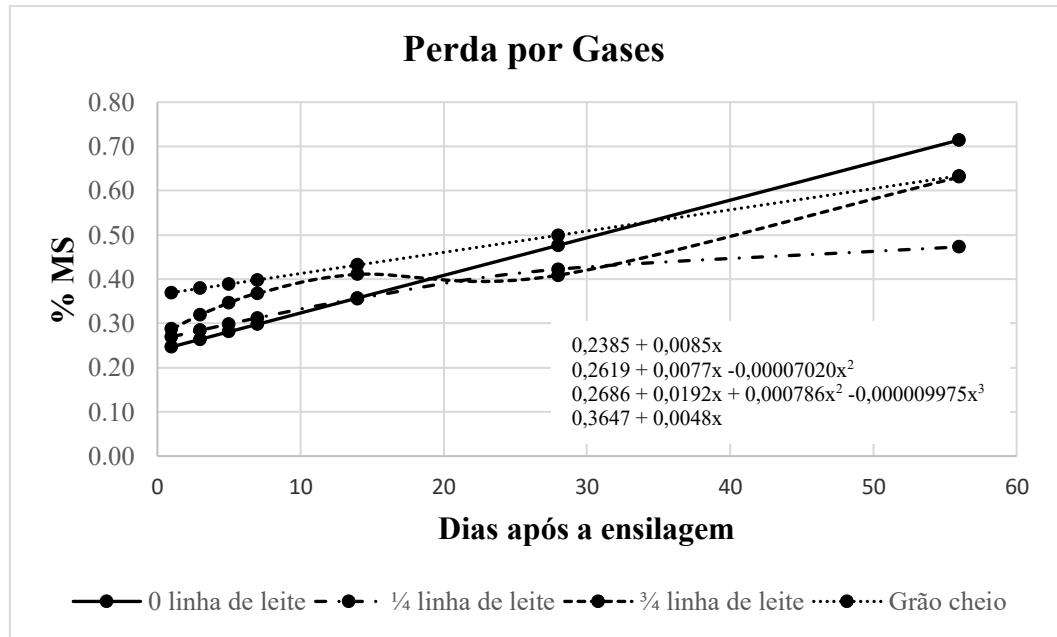


Gráfico 2. Perdas por gases (% MS) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

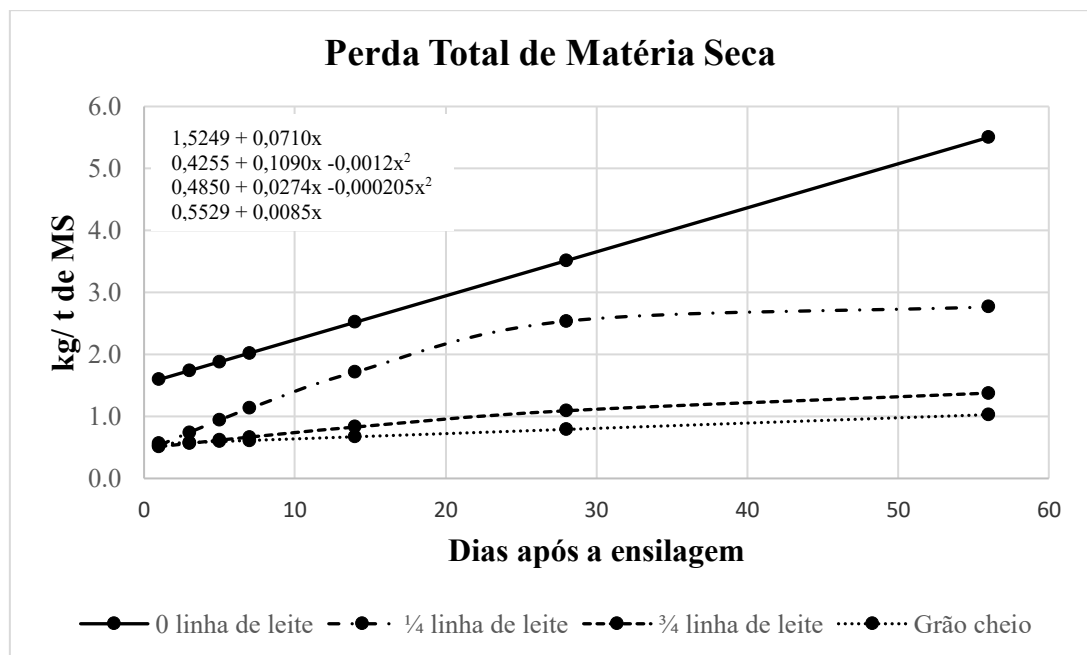


Gráfico 3. Perdas total de matéria seca (kg/t de MS) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

No primeiro dia após a ensilagem todos os estádios de maturação obtiveram pH adequado para conservação das forrageiras, compatível com os teores de MS. No 56º dia após a ensilagem o pH foi maior no estágio de maturação grão cheio (3,94) e menor no estágio de maturação sem linha de leite (3,69) (Gráfico 4). A taxa de queda do pH e seus valores finais

nas silagens foram influenciados pela umidade das forrageiras na ensilagem. No entanto, todos os estádios de maturação obtiveram pH adequado, indicando satisfatório processo fermentativo para conservação das silagens (McDonald et al., 1991).

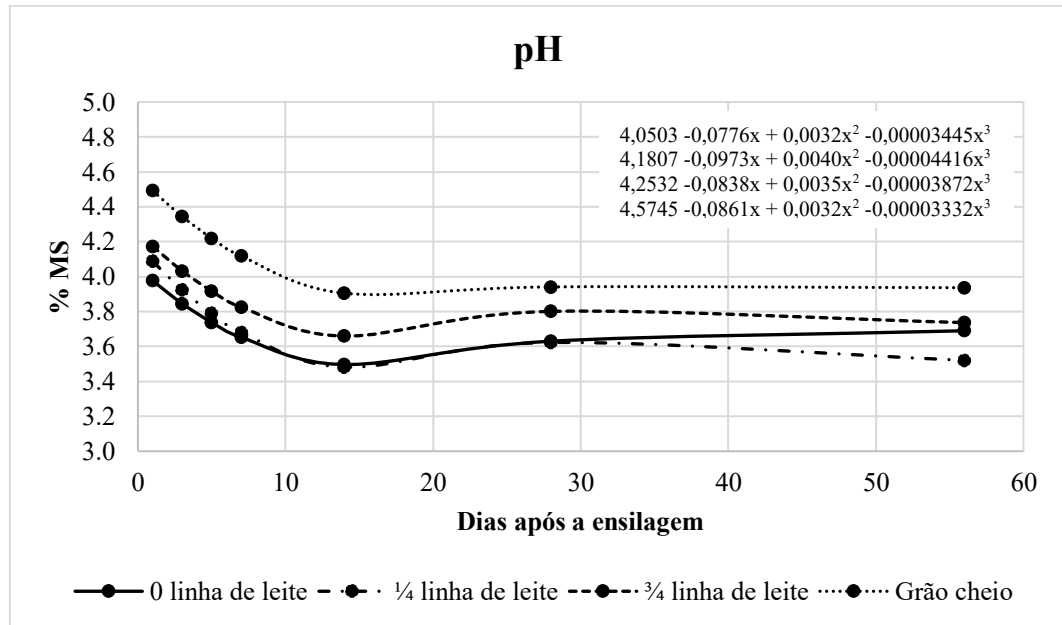


Gráfico 4. pH das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

O nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total (N-NH₃/NT) em todos os estádios de maturação aumentou até aproximadamente o 40º dia após a ensilagem, o que indica proteólise por enzimas das forrageiras, no início da ensilagem, e por microrganismos proteolíticos no silo. Posteriormente, com a redução do pH, provavelmente, houve inibição da atividade desses microrganismos, uma vez que o N-NH₃/NT reduziu até o 56º dia após a ensilagem (Gráfico 5). Com o avanço do estágio de maturação houve aumento do N-NH₃/NT, o que indica aumento da proteólise de proteínas zeína da matriz amido-proteína dos grãos de milho (Der Bedrosian et al. 2012; Ferraretto et al., 2015).

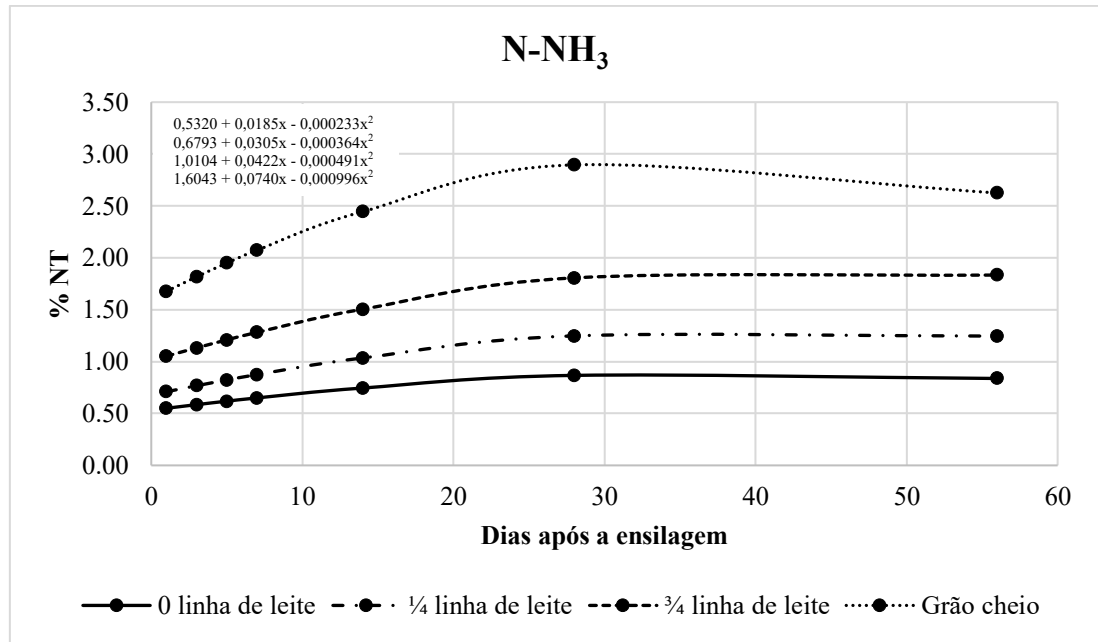


Gráfico 5. Nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total (N-NH₃/NT) das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

O ácido láctico foi o ácido orgânico mais produzido no processo de fermentação. O teor de ácido láctico aumentou 0,1407% por dia após a ensilagem no estágio de maturação sem linha de leite (Gráfico 6). O maior teor de ácido láctico no 56º dia após a ensilagem foi observado nesse estágio de maturação (11,85% MS). O teor de ácido acético no estágio de maturação 3/4 linha de leite foi alto no primeiro dia após a ensilagem (4,14% MS). No entanto, reduziu a valores próximos de zero no 36º dia após a ensilagem, provavelmente, devido à bactérias que atuaram sobre o ácido acético produzindo CO₂, o que explica o aumento na PG (Gráfico 2). Foi observado ácido acético nas silagens dos estádios de maturação 3/4 linha de leite e grão cheio. O teor de ácido acético no estágio de maturação grão cheio aumentou com o avanço dos dias após a ensilagem, cujo teor foi 1,18% MS no 56º dia após a ensilagem (Gráfico 7).

Não houve diferença nos teores dos ácidos propiônico e butírico. Os teores dos ácidos propiônico e butírico ficaram abaixo de 0,3%, o que indica adequado processo fermentativo (McDonald et al., 1991).

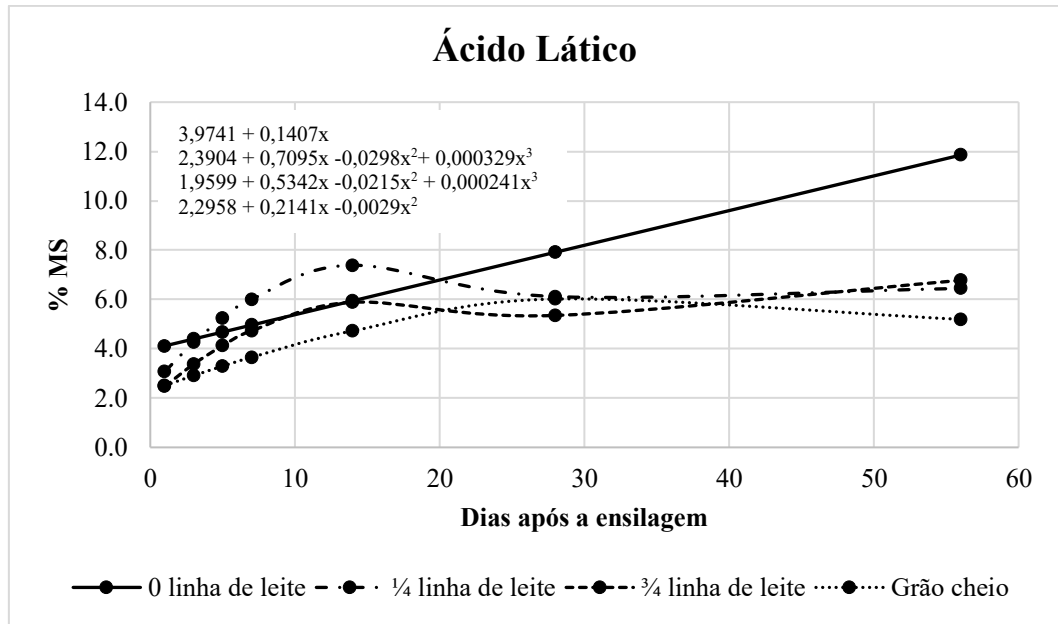


Gráfico 6. Ácido lático das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

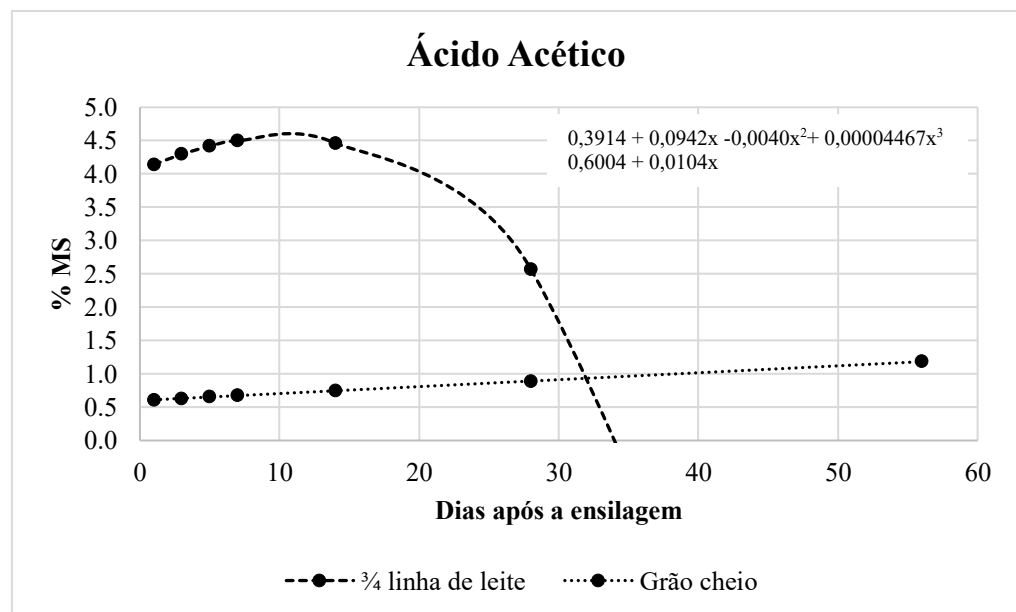


Gráfico 7. Ácido acético das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação.

Não houve diferença na quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias na abertura do silo e na perda de estabilidade aeróbia (Tabela 4). Na abertura do silo foram identificadas as bactérias *Cellulosimicrobium cellulans*, *Magnusiomyces* spp. *Magnusiomyces capitatus*, *Rhodococcus equi*, *Morganella morganii*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus pumilus*, *Candida krusei*, *Lactobacillus plantarum* e *Ochrobactrum intermedium*.

Na perda de estabilidade aeróbia foram identificadas as mesmas bactérias da abertura do silo, com exceção da *Ochrobactrum intermedium*. Na perda de estabilidade aeróbia também foram identificadas as bactérias *Kerstersia gyiorum*, *Providencia rettgeri*, *Lysinibacillus boronitolerans*, *Pseudomonas* spp., *Pseudochrobactrum* spp. e *Lysinibacillus boronitolerans*.

Houve redução de $5,13 \times 10^4$ UFC de leveduras até o estágio de maturação $\frac{1}{4}$ linha de leite e aumento de $6,02 \times 10^6$ UFC no estágio de maturação grão cheio, comparado ao estágio de maturação $\frac{1}{4}$ linha de leite. Com o avanço do estágio de maturação houve aumento de $4,46 \times 10^6$ UFC de fungos na abertura do silo (Tabela 4), provavelmente, devido ao aumento no teor de MS e tamanho das partículas das silagens, o que pode ter ocasionado menor compactação da forrageiras nos silos. A menor compactação pode ter propiciado maior presença de oxigênio na massa ensilada e aumento de UFC de fungos, uma vez que esses microrganismos são aeróbios estritos. O maior pH (4,13) também pode ter proporcionado ambiente mais favorável para o desenvolvimento dos fungos (Tabela 2).

Na abertura das silagens foram identificados os fungos *Penicilium citrinum*, *Penicilium chrysogenum*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus tamarii*, *Fusarium verticillioides*, *Paecilomyces niveus*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma* spp. e *Mycelia sterile*.

Na perda da estabilidade aeróbia foram identificados os fungos *Penicilium citrinum*, *Penicilium corylophilum*, *Penicilium variotii*, *Penicilium chrysogenum*, *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium verticillioides*, *Trichosporon*.

Em todos os estádios de maturação a quantidade de UFC de bactérias, leveduras e fungos aumentou na perda de estabilidade aeróbia das silagens, devido a exposição ao ambiente atmosférico. Os aumentos variaram de $2,78 \times 10^7$ a $4,3 \times 10^{10}$ UFC (Tabela 4). A exposição ao oxigênio é prejudicial à qualidade da silagem, uma vez que favorece o crescimento de microrganismos que podem degradar nutrientes (Tabacco et al., 2011; Wilkinson e Davies, 2012).

Tabela 4. Contagem microbiológica das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação na abertura do silo e na perda de estabilidade aeróbia¹

Bactérias								
	Linha de Leite				EPM ²	P ³	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ⁴	Q ⁵
Abertura do silo	1,27x10 ⁶	6,79x10 ⁷	1,26x10 ⁷	5,08x10 ⁶	111168,0985	NS	-	-
Perda de estabilidade aeróbia	4,31x10 ¹⁰	1,32x10 ⁹	1,22x10 ⁹	1,90x10 ¹⁰	4988,8715	NS	-	-
EPM	1580898,5590	12434,1343	3724,1955	1269209519,0000				
P	0,0002	0,0341	0,0033	0,0190				
Leveduras								
	Linha de Leite				EPM ²	P ³	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ⁴	Q ⁵
Abertura do silo	7,36x10 ⁴	2,24x10 ⁴	3,53x10 ⁴	6,07x10 ⁶	10742,6857	0,0411	0,0530	0,0637
Perda de estabilidade aeróbia	4,60x10 ⁹	2,78x10 ⁷	7,68x10 ⁷	1,00x10 ¹⁰	2,0814	0,0273	NS	0,0048
EPM	1983,0505	249007,9062	189376,9097	1098,3048				
P	<0,0001	0,0001	<0,0001	0,0047				
Fungos								
	Linha de Leite				EPM ²	P ³	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ⁴	Q ⁵
Abertura do silo	1,19x10 ⁴	3,89x10 ⁴	4,19x10 ⁴	4,47x10 ⁶	190,2969	0,0404	0,0338	NS
Perda de estabilidade aeróbia	7,64x10 ⁹	6,56x10 ⁷	3,38x10 ⁸	1,31x10 ¹⁰	5942,5132	NS	-	-
EPM	9,6838	1144912,2640	7,5115	565696,1601				
P	<0,0001	0,0002	<0,0001	0,0036				

¹Unidades Formadoras de Colônia por grama de silagem; ²Erro padrão da média; ³Significância; ⁴Linear, ⁵Quadrático.

CONCLUSÃO

O melhor estágio de maturação para ensilagem do híbrido de milho BRS 3042 é sem linha de leite.

REFERÊNCIAS

BOLSEN, K.K.; LIN, C.; BRENT, B.E. et al. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfafa and corn silages. *Journal of Dairy Science*, v.75, n.11, p.3066-3083, 1992.

DER BEDROSIAN, M.C.; KUNG JR., L.; NESTOR JR., K.E. The effects of hybrid, maturity and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.5115-5126, 2012.

FERRARETTO, L.F.; SHAVER R.D.; MASSIE, S. et al. Effect of ensiling time and hybrid type on fermentation profile, nitrogen fractions and ruminal in vitro starch and NDF digestibility in whole-plant corn silage. *The Professional Animal Scientist*, v.31, p.146-152, 2015.

FERRARETTO, L.F.; SHAVER, R.D; LUCK, B.D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *Journal of Dairy Science*, v.101 p.3937-3951, 2018.

KLICH, M.A. Identification of common *Aspergillus* species. Netherlands, Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. *Fungi and food spoilage*. 3ed. New York: Springer, 2009. 519p.

SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. *Introduction to food and airborne fungi*. 7ed. Netherlands, Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2004. 389p.

MCENIRY, J.; O'KIELY, N.J.W.; CLIPSTON, P.D. et al. The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass Forage Science*, v.62, p.470-484. 2007.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Marlow, UK: Chalcombe Publications. 1991.

RABELO, C.H.S.; REZENDE, A.V.; NOGUEIRA, P.A. et al. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de milho inoculadas com bactérias ácido-láticas em diferentes estádios de maturidade. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.13, n.3, p.656-668, 2012.

RUPPEL, K.A.; PITT, R.E.; CHASE, L.E. et al. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. *Journal of Dairy Science*, v.78, p.141-15, 1995.

TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A. et al. 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.

WILKINSON, J.M.; DAVIES, D.R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, v.68, p.1-19, 2012.

5. ARTIGO

Comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade, partição energética e emissão de metano por ovinos alimentados com silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

Naiara Taís Alves da Silva¹, Lúcio Carlos Gonçalves¹, José Avelino Santos Rodrigues², Joana Ribeiro da Glória¹, Ricardo Reis e Silva, Diogo Gonzaga Jayme¹

¹Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA – Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

As empresas de melhoramento genético vegetal disponibilizam no mercado, anualmente, vários genótipos de milho para a produção de silagens. O estágio de maturação desses genótipos de milho deve ser avaliado, pois influencia o teor de matéria seca, proporções dos constituintes da planta e, por consequência, a produtividade e o consumo e digestibilidade dos nutrientes das silagens. O híbrido de milho BRS 3042 foi ensilado nos estádios de maturação sem linha de leite (24,56% MS), $\frac{1}{4}$ linha de leite (29,10% MS), $\frac{3}{4}$ linha de leite (38,78% MS) e grão cheio (45,74% MS). Objetivou-se determinar o melhor estágio de maturação para ensilagem desse híbrido de milho. A produtividade de matéria seca (PMS) e rendimento de matéria seca digestível (RMSD) foram semelhantes em todos os estádios de maturação (17,0 e 11,02 t/ha, respectivamente). Os teores de FDN e FDA das silagens reduziram até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (8,51% e 15,23%, respectivamente). Os teores de PB não foram alterados. Os teores de CNF e amido aumentaram, em razão do aumento de 18,06% na proporção de espigas. No entanto, os consumos de MS, PB e FDN reduziram até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (25,50%, 48,27%, 39,34% MS, respectivamente). As digestibilidades da MS, PB e FDN reduziram (10,46%, 20,85% e 33,11%, respectivamente). O consumo de matéria seca digestível (CMSD) e o consumo de energia digestível reduziram 36,48% e 33,97%, respectivamente, até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (36,16% MS). O melhor estágio de maturação para ensilagem do híbrido de milho BRS 3042 é sem linha de leite.

Palavras-chave: energia, metano, silagem de milho, valor nutricional.

ABSTRACT

The plant breeding companies make several corn genotypes available on the market each year for silage production. The maturation stage for ensilage of these corn genotypes must be evaluated, as it influences the DM content, proportion of the plant constituents, fermentation process, chemical composition and, consequently, the productivity and nutritional value of the silages. The BRS 3042 corn hybrid was ensiled at maturation stages with grains without milk line (24.56% DM), ¼ milk line (29.10% DM), ¾ milk line (38.78% DM) and full grain (45.74% DM). The objective was to determine the best maturation stage for ensilage of this corn hybrid. The dry matter productivity (DMP) and digestible dry matter yield (DDMY) were similar at all maturation stages (17.0 and 11.02 t/ha, respectively). The levels of NDF and ADF of the silages reduced until the maturation stage of the milk line (8.51% and 15.23%, respectively). CP contents were not changed. The NFC and starch levels increased due to the increase of 18.06% in the proportion of spikes. However, the DM, CP and NDF intake reduced until the maturation stage ¾ milk line (25.50%, 48.27%, 39.34% DM, respectively). The DM, CP and NDF digestibility decreased (10.46%, 20.85% and 33.11%, respectively). The digestible dry matter intake and digestible energy intake reduced 36.48% and 33.97%, respectively, to the maturation stage ¾ milk line (36.16% DM). The best maturation stage for silage of the BRS 3042 corn hybrid is without milk line.

Key-words: energy, methane, corn silage, nutritive value.

INTRODUÇÃO

As empresas de melhoramento genético vegetal disponibilizam no mercado, anualmente, vários genótipos de milho para a produção de silagens. O estágio de maturação desses genótipos de milho deve ser avaliado (Ferraretto et al., 2018), pois influencia o teor de matéria seca, proporções dos constituintes da planta e, por consequência, a produtividade e o consumo e digestibilidade dos nutrientes das silagens.

A ensilagem em estádios de maturação mais avançados tem sido sugerida para aumentar os rendimentos de matéria seca e amido (Owens, 2014). No entanto, a ensilagem em estádios

de maturação avançados pode prejudicar a digestibilidade dos nutrientes (Ferraretto e Shaver, 2012).

As variações nas recomendações de estágio de maturação na ensilagem demonstram efeitos inerentes aos genótipos de milho, condições edafoclimáticas e práticas agrícolas. Objetivou-se determinar o melhor estágio de maturação para ensilagem do híbrido de milho BRS 3042.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantio e ensilagem do material

O híbrido de milho BRS 3042 foi cultivado na área experimental do CNPMS da EMBRAPA, localizado no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19°28'S, longitude 44°15'W e altitude de 732 metros). No dia 03/02/2014 foram plantados 5 canteiros (parcela de campo) para cada estágio de maturação avaliado. O espaçamento utilizado foi de 70 cm entrelinhas e a adubação de plantio foi de 400 kg/ha de 08-28-16 (NPK) + 0,5% Zn por hectare (ha). Trinta e cinco dias após o plantio, foi aplicado 100 kg de nitrogênio por ha em cobertura. A colheita das parcelas foi realizada aos 91, 98, 105 e 112 dias após o plantio, em que os grãos estavam nos estádios de maturação sem (zero) linha de leite, ¼ linha de leite, ¾ linha de leite e grão cheio (24,56; 29,10; 38,78 e 45,74% de MS da planta inteira), respectivamente.

Antes da colheita da lavoura foram retiradas cinco amostras das plantas presentes em cinco metros lineares. Foi mensurado o número, altura e peso das plantas, e o resultado utilizado no cálculo da produtividade de matéria natural. Para cada amostra retirada, seis plantas foram coletadas e as frações folha, colmo e espiga separados e pesados. As amostras de planta inteira e frações foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas a 1 mm e utilizadas para a determinação do teor de matéria seca (MS) em estufa a 105°C. A lavoura foi colhida e picada a dois cm e ensilada em tambores metálicos de 200 L (silos experimentais) revestidos internamente com sacos de polietileno (25 tambores para cada estágio de maturação). Após o enchimento, os silos experimentais foram tampados, vedados com lacres metálicos e abertos após 56 dias de ensilagem.

Consumo e digestibilidade aparente

Os procedimentos experimentais com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG) (no.188/2013). Oito carneiros adultos, machos, sem raça definida e com média de peso de 43 ± 5 kg foram distribuídos em dois quadrados latinos 4x4 balanceados e simultâneos. Antes de iniciar o experimento os carneiros foram tosquiados, casqueados, vermifugados e vacinados.

Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais de dimensões 1,50 x 0,80 m e fixadas a altura de 0,6 m do solo. As gaiolas foram confeccionadas em cantoneira de ferro com piso ripado de madeira, revestidas lateralmente com placas de acrílico finas e transparentes. As gaiolas foram apropriadas para coleta de urina e fezes simultaneamente e possuíam bebedouro, comedouro de aço inoxidável e saleiro de polietileno. O galpão e as gaiolas foram higienizados diariamente.

O primeiro período experimental consistiu em 14 dias de adaptação às gaiolas e à alimentação, seguido por um período de sete dias de coleta de amostras. Os demais períodos foram de sete dias de adaptação à alimentação e sete dias de coleta de amostras. As silagens foram fornecidas duas vezes ao dia (7:00 e 15:00 horas) em quantidade suficiente para obter 10% de sobras no cocho. Água e a mistura mineral foram fornecidas *ad libitum*. As quantidades de silagens (oferecidas e sobras) foram mensuradas diariamente durante todo o período experimental, enquanto as produções de fezes e de urinas foram mensuradas nos períodos de coleta.

As silagens oferecidas, sobras, fezes e urinas foram amostradas durante as coletas. Para cada tratamento foi coletado aproximadamente 1,0 kg por dia das silagens oferecidas aos carneiros. Cinco tambores de cada tratamento foram amostrados para a obtenção de vinte amostras do oferecido. As sobras foram recolhidas pela manhã, pesadas e armazenadas por animal. As fezes foram pesadas e realizada coleta total. O volume diário de urina excretado por cada animal foi mensurado e uma amostra equivalente a 20% do volume total foi retirada. A urina foi coletada utilizando-se funis acoplados às gaiolas e captada por baldes cobertos com telas metálicas para a separação das fezes e demais impurezas. Nos baldes coletores de urina foi adicionado diariamente 100 mL de HCl 2N para não haver perda de nitrogênio urinário por volatilização ou decomposição. As fezes foram coletadas em caixas plásticas dispostas abaixo dos funis.

As amostras das silagens oferecidas, sobras, fezes e urinas foram armazenadas em câmara fria à -17°C . Após o término das coletas foi realizado um *pool* para obtenção das amostras compostas por coleta.

As amostras das silagens oferecidas, sobras e fezes foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas a 1 mm e utilizadas para a determinação do teor de matéria seca (MS) em estufa a 105°C; matéria mineral (MM) (AOAC, 1990); matéria orgânica (MO), calculada pela diferença do conteúdo antes e depois da queima completa da amostra; proteína bruta (PB) (AOAC, 1990); extrato etéreo (EE), pelo processo Soxlet (AOAC, 1995); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN); fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e ligninas pelo método sequencial (Van Soest et al. 1991), utilizando analisador de fibras Ankom²⁰⁰ (Ankom Technology Corporation, Fairport, New York, USA). A enzima amilase termoestável (Termamyl 2x, Novozymes A/S, Krogshoejvej, Bagsvaerd, DK) foi adicionada na proporção de 0,5 mL por amostra durante as análises de FDN. Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de PB para obtenção dos valores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), respectivamente. Os valores de PIDN e a MM do resíduo da análise de FDN foram utilizados para corrigir a FDN para cinzas e proteína (FDNcp); cálcio (Ca) por oxidimetria; fósforo (P), por espectroscopia de emissão ótica (Silva e Queiroz, 2002); carboidratos não fibrosos (CNF) pela equação $CNF = 100 - (\%FDNcp + \%PB + \%EE + \%MM)$; amido (Hall, 2009); digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), segundo procedimento descrito por Tilley e Terry (1963) e adaptado por Holden (1999) com a utilização do simulador de rúmen Daisy II (Ankom Technology Corporation, Fairport, New York, USA); energia bruta (EB) por combustão em bomba calorimétrica adiabática (PARR Instrument Company, 2600, Moline, Illinois, USA). As amostras de urina foram submetidas a análise de nitrogênio pelo método de Kjeldahl e a secagem prévia em estufa a 55°C por 72 horas para determinação de seus teores de energia bruta.

O peso diário das silagens oferecidas e das sobras, durante o período experimental e as análises bromatológicas foram utilizados para o cálculo do consumo de matéria seca e dos nutrientes. O consumo de matéria seca (CMS) foi determinado (Coelho da Silva e Leão, 1979) segundo a equação:

$$CMS = kgOF - kgSO$$

Em que:

kgOF = quantidade de silagem oferecida, em kg de MS;

kgSO = quantidade de sobras retiradas, em kg de MS.

Os consumos dos nutrientes foram determinados (Coelho da Silva e Leão, 1979) segundo a equação:

$$\text{Consumo} = [(\text{kgOF} \times \% \text{OF})/100] - [(\text{kgSO} \times \% \text{SO})/100]$$

Em que:

kgOF = quantidade de silagem oferecida, em kg de MS;

%OF = concentração do nutriente na silagem oferecida, em % da MS;

kgSO = quantidade de sobras retiradas, em kg de MS;

%SO = concentração do nutriente nas sobras, em % da MS.

Os dados de consumo e produção fecal foram utilizados para a avaliação da digestibilidade conforme metodologia utilizada por Maynard et al. (1984), segundo a equação:

$$\text{DA} = \frac{(\text{NC} - \text{NF})}{\text{NC}} \times 100$$

Em que:

NC = nutriente consumido, em kg de MS;

NF = nutriente nas fezes, em kg de MS.

O rendimento de matéria seca digestível (RMSD) foi determinado pela produtividade de matéria seca digestível excluída a perda de matéria seca das silagens.

O balanço de nitrogênio (BN) ou nitrogênio retido, em gramas por dia, foi calculado pela equação:

$$\text{BN} = \text{NI} - (\text{NF} + \text{NU})$$

Em que:

NI = nitrogênio ingerido, em g por dia;

NF = nitrogênio fecal, em g por dia;

NU = nitrogênio urinário, em g por dia.

Comportamento ingestivo

As avaliações de comportamento ingestivo foram realizadas nos dois últimos dias de cada período do ensaio de consumo e digestibilidade. No primeiro dia os animais foram

avaliados visualmente a cada cinco minutos durante 24 horas, totalizando 288 observações. As avaliações consistiam em verificar se o animal estava alimentando, 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 meréricas por bolos ruminal entre os períodos de 10:00 às 12:00 horas; 17:00 às 19:00 horas; e 21:00 às 23:00 horas), no total de nove avaliações.

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

As silagens oferecidas foram analisadas quanto ao tamanho de partícula pelo método *Penn State Particle Size Separator* (Heinrichs e Kononoff, 2002).

Partição energética e emissão de metano

Após cada período do ensaio de consumo e digestibilidade a produções de metano (CH₄) dos carneiros foram mensuradas durante 24 horas de acordo com Rodriguez et al. (2007). Diariamente os carneiros foram alojados individualmente em duas câmaras respirométricas construídas de placas de acrílico nas dimensões de 1,20 m de largura x 2,10 m de comprimento x 2,0 m de altura. A temperatura interna das câmaras foi mantida a 22°C por aparelhos de ar condicionado. O fluxo de ar para o interior das câmaras foi regulado por fluxômetros para permitir a entrada de ar na taxa de 1,0 L kg PV⁻¹ minuto⁻¹ e o gás de seu interior foi aspirado com auxílio de uma válvula automática. O ar atmosférico e o gás aspirado do interior das câmaras foram filtrados em colunas de 1,0 L de sílica dessecante para a remoção da umidade e logo em sequência analisados. As concentrações de CH₄ foram mensuradas utilizando-se analisadores de infra-vermelho (CA-2A Carbon Dioxide Analyzer e MA-1 Methane Analyzer, Sable System Intational, Las Vegas, Nevada, USA). Todas as manhãs, antes do início das leituras diárias, os aparelhos analisadores foram calibrados usando-se gases padronizados (100% N₂, 1% CH₄, 99% N₂, 21% O₂, 79% N₂, 5% CO₂, 95% N₂). Durante 4 dias em cada período de avaliação foram realizadas mensurações com os animais em regime de alimentação *ad libitum*, sendo pesadas e amostradas a silagem oferecida, as sobras e a urina. A produção de CH₄ foi calculada baseada no contraste entre a composição da entrada e a de saída do ar (Kleiber, 1961). Para a conversão do volume de CH₄ em massa utilizou-se o valor de 0,716 g L⁻¹.

O teor de MS das amostras de sobras e o teor de N das amostras de urina dos animais foram determinados segundo as metodologias utilizadas no ensaio de consumo e digestibilidade.

Análises estatísticas

Nas análises estatísticas de características agronômicas, produtividade e composição bromatológica foi utilizado modelo misto em procedimento “PROC MIXED” do SAS[®]. Delineamento de blocos ao acaso com quatro estádios de maturação e cinco repetições, em que o tratamento foi efeito fixo e o bloco efeito aleatório, segundo o modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$

Em que:

Y_{ij} = valor referente à observação do estádio de maturação i no bloco j ;

μ = média geral;

T_i = efeito fixo do tratamento i ($i = 0, \frac{1}{4}, \frac{3}{4}, 1$);

B_j = efeito aleatório do bloco j ($j = 1, 2, 3, 4, 5$);

e_{ij} = erro aleatório associado à observação.

Para a análise dos resultados de consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, perdas de energia, emissão de CH₄ e comportamento ingestivo foi utilizado modelo misto em procedimento “PROC MIXED” do SAS[®]. Delineamento em dois quadrados latinos simultâneos balanceados, em que quadrado latino, tratamento e período foram efeitos fixos e o animal efeito aleatório, de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ijkl} = \mu + Q_i + T_j + P_k + A_l + e_{ijkl}$.

Em que:

Y_{ijkl} = valor da parcela que recebeu o tratamento j no quadrado latino i e período k ;

μ = média geral;

Q_i = efeito fixo de quadrado latino ($i = 1$ e 2)

T_j = efeito fixo de tratamento ($j = 1$ a 4)

P_k = efeito fixo de período ($k = 1$ a 4)

A_l = efeito aleatório de animal ($l = 1$ a 8)

e_{ijkl} = erro associado a cada valor da parcela.

Polinômios ortogonais foram usados para determinar se o estágio de maturação resultou em efeito linear ou quadrático sobre os parâmetros medidos. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. De acordo com as necessidades, foram realizadas correlações de Pearson entre as variáveis estudadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produtividade de matéria natural (PMN) foi 76,57% maior no estágio de maturação sem linha de leite, comparado ao estágio de maturação grão cheio. Foram produzidas 29,12 toneladas de forragem a mais, o que pode ocasionar maiores custos com transporte até o silo e fornecimento para os animais, uma vez que não houve diferença na produtividade de matéria seca (PMS) e rendimento de matéria seca digestível (RMSD) (Tabela 5).

Com o avanço do estágio de maturação houve aumento de 69,79% nos teores de matéria seca (MS) das silagens (Tabela 5). O alto teor de MS no estágio de maturação grão cheio (44,45%) pode ocasionar maiores custos com compactação dessa forrageira no silo.

O pH foi adequado em todos os estádios de maturação, o que indica conservação da forrageira e silagens de boa qualidade (McDonald et al., 1991).

A concentração de proteínas zeína grãos do milho pode ser afetada por vários fatores, incluindo o estágio de maturação na ensilagem (Ferraretto e Shaver, 2012). Com o avanço do estágio de maturação houve aumento do nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH₃/NT) (Tabela 6), o que indica aumento da proteólise de proteínas zeínas da matriz amido-proteína dos grãos de milho, uma vez que o N-NH₃/NT é um indicador de intensidade da proteólise e seu aumento tem sido relacionado positivamente com a digestibilidade do amido em silagens de milho (Der Bedrosian et al. 2012; Ferraretto et al., 2015).

Tabela 5. Características agrônômicas e produtividade do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

	Linha de Leite				EPM ⁷	P ⁸	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ⁹	Q ¹⁰
Estande ¹	80.000	84.000	82.286	81.143	3181,58	NS	-	-
Altura ²	2,90	3,05	3,0	3,05	0,08	NS	-	-
Folha ³	23,24	21,42	21,61	22,12	0,77	NS	-	-
Colmo ³	34,07	31,29	27,98	26,73	1,03	0,0005	<0,0001	NS
Espiga ³	42,70	47,29	50,41	51,14	1,13	0,0003	<0,0001	NS
PMN ⁴	65,49	61,02	43,27	36,47	3,1783	<0,0001	<0,0001	NS

PMS ⁵	16,08	17,76	17,63	16,70	1,50	NS	-	-
RMSD ⁶	10,51	11,68	11,53	10,34	1,21	NS	-	-

¹plantas/ha; ²em metros; ³em % da MS da planta inteira; ⁴PMN: Produtividade de matéria natural (t/ha); ⁵PMS: Produtividade de matéria seca (t/ha); ⁶RMSD: Rendimento de matéria seca digestível (t/ha); ⁷Erro padrão da média; ⁸Significância; ⁹Linear, ¹⁰Quadrático.

Houve redução de 8,51% nos teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), 8,87% nos teores de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e 15,23% nos teores de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite. Após esse estágio de maturação os teores de fibra se mantiveram (Tabela 6). A redução nos teores de fibra ocorreu em razão do aumento de 18,06% na proporção de espigas (grãos) das silagens (Tabela 5), o que explica o aumento de 15,32% nos teores de carboidratos não fibrosos (CNF) e 52,44% nos teores de amido (Tabela 6).

Tabela 6. Composição bromatológica e características da fermentação das silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação¹

	Linha de Leite				EPM ¹¹	P ¹²	Efeito	
	0	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	1			L ¹³	Q ¹⁴
Matéria seca	26,18	27,25	36,16	44,45	0,89	<0,0001	<0,0001	0,0009
Proteína bruta (PB)	7,41	7,54	7,42	7,42	0,17	NS	-	-
FDN ²	55,72	49,70	51,35	51,51	0,76	<0,0001	0,0014	0,0002
FDNcp ³	52,91	46,98	48,60	48,86	0,76	0,0001	0,0022	0,0003
FDA ⁴	34,88	30,77	30,27	30,34	0,49	<0,0001	<0,0001	0,0004
Ligninas	2,99	2,73	2,81	2,97	0,16	NS	-	-
Extrato etéreo	2,00	2,13	1,70	1,60	0,14	0,0395	0,0148	NS
CNF ⁵	32,83	38,79	37,86	37,92	0,99	0,0004	0,0010	0,0018
Amido	22,31	28,48	34,01	31,89	0,99	<0,0001	<0,0001	0,0007
PIDN/PB ⁶	20,92	18,54	21,25	19,47	0,86	NS	-	-
PIDA/PB ⁷	8,97	8,82	8,96	8,42	0,39	NS	-	-
Matéria mineral	4,84	4,55	4,42	4,20	0,08	0,0006	<0,0001	NS
Cálcio	0,31	0,29	0,30	0,29	0,01	NS	-	-
Fósforo	0,1864	0,2104	0,2139	0,2092	0,0027	<0,0001	<0,0001	<0,0001
DIVMS ⁸	67,05	66,02	66,22	64,59	1,40	NS	-	-
pH	3,79	3,84	3,96	4,13	0,02	<0,0001	<0,0001	0,0090
N-NH ₃ /NT ⁹	1,84	2,40	3,99	5,74	0,11	<0,0001	<0,0001	<0,0001
> 19 mm ¹⁰	94,04	167,53	294,87	306,00	21,48	<0,0001	<0,0001	NS
19 - 8 mm ¹⁰	762,37	684,01	549,37	501,60	21,13	<0,0001	<0,0001	NS
8 - 1,18 mm ¹⁰	126,69	126,63	123,29	152,62	10,18	NS	-	-
< 1,18 mm ¹⁰	16,90	21,83	32,47	39,77	4,69	0,0130	0,0015	NS

¹% da matéria seca; ²FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; ³FDNcp: Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; ⁴FDA: Fibra insolúvel em detergente ácido; ⁵CNF: Carboidratos não fibrosos; ⁶PIDN: Proteína insolúvel em detergente neutro (%PB); ⁷PIDA: Proteína insolúvel em detergente ácido (%PB); ⁸DIVMS: Digestibilidade *in vitro* da matéria seca; ⁹N-NH₃/NT: Nitrogênio (N) amoniacal em porcentagem do N total; ¹⁰Tamanho de partículas em milímetros (gramas por kg de matéria natural); ¹¹Erro padrão da média; ¹²Significância; ¹³Linear; ¹⁴Quadrático.

Houve redução de 25,50% no consumo de matéria seca (CMS), 36,48% no consumo de matéria seca digestível (CMSD) e 24,85% no consumo de matéria orgânica (CMO) até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite e aumento de 9,65%, 9,90% e 8,14%, respectivamente, no estágio de maturação grão cheio, comparado ao estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite. Por consequência, houve redução de 24,48%; 33,97% e 33,88% nos consumos de energia bruta, energia digestível e energia metabolizável, respectivamente, até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (Tabela 7).

Exceto para o estágio de maturação sem linha de leite ($64,12 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0.75} \text{ d}^{-1}$), o CMS observado foi abaixo do preconizado pelo NRC (2007) para ovinos em manutenção ($60,0$ a $80,0 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0.75} \text{ d}^{-1}$). Grandes quantidades FDN na dieta podem ocasionar enchimento do rúmen e limitar o CMS (Van Soest, 1994). No entanto, em nenhum dos estádios de maturação os carneiros atingiram consumo de FDN acima $1,4 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV d}^{-1}$, o que de acordo com o NRC (2007) é suficiente para inibir o CMS. A redução no CMS ocorreu, provavelmente, em razão da redução de 10,46% na digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS) com o avanço do estágio de maturação (Tabela 8).

Houve redução de 39,34% e 50,35% no consumo de FDN e FDA até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite e aumento de 9,11% e 9,93%, respectivamente, no estágio de maturação grão cheio, comparado ao estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (Tabela 3). A redução no consumo de fibra ocorreu, provavelmente, em razão da redução de 33,11% na digestibilidade da fibra insolúvel em detergente neutro (DFDN) (Tabela 8).

Com o avanço do estágio de maturação a digestibilidade da parede celular da planta de milho diminui (Johnson et al., 1999; Bal et al., 2000; Buxton e O'Kiely, 2003), em razão da maior lignificação das frações vegetativas durante a maturação (Hunt et al., 1989; Cone e Engels, 1993). Portanto, ensilagem em estádios de maturação mais avançados para obtenção de maiores concentrações de amido podem ocasionar redução da digestibilidade das frações vegetativas (Allen et al., 2003).

A digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS) reduziu, provavelmente, em razão da redução de 20,85% na digestibilidade aparente da proteína bruta (DAPB) das silagens, mas, principalmente, devido a redução da digestibilidade da FDN, que não foi compensada pelo aumento de 18,06% na proporção de espigas (Tabela 1). O enchimento e maturação dos grãos e consequente aumento nos teores de CNF e amido das silagens não foram suficientes para manter ou melhorar o valor nutritivo do híbrido de milho BRS 3042 com o avanço do estágio de maturação. Reduções de digestibilidade *in situ* e *in vitro* da FDN das frações vegetativas da

planta de milho em estádios de maturação avançado foram relatados por Lewis et al. (2004) e Row et al. (2016).

A redução da DFDN, provavelmente, ocasionou maior tempo de retenção das silagens e menor crescimento microbiano no rúmen, com conseqüente redução de 25,50% no CMS. A redução da digestibilidade da FDN pode estar associada a seleção do híbrido de milho BRS 3042 para maior resistência ao acamamento.

Não houve efeito do estágio de maturação sobre os teores e consumos de ligninas. No entanto, apenas os teores de ligninas não justificam a redução na DFDN. A proporção de cada lignina (guaiacil, siringil e hidroxifenil) e o arranjo estrutural dos constituintes da fibra determinam a degradação pela microbiota ruminal.

Tabela 7. Consumo de matéria seca, nutrientes e frações energéticas por ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação¹

	Linha de Leite				EPM ¹²	P ¹³	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ¹⁴	Q ¹⁵
Matéria seca	64,12	55,05	51,09	56,02	2,07	0,0015	0,0045	0,0021
Matéria seca digestível	43,44	35,21	31,83	34,42	1,46	0,0001	0,0001	0,0012
Matéria orgânica	61,04	52,52	48,89	53,73	1,98	0,0018	0,0064	0,0020
Matéria mineral	3,08	2,53	2,20	2,29	0,09	<0,0001	<0,0001	0,0020
Proteína bruta (PB)	4,70	4,10	3,79	4,17	0,17	0,0066	0,0152	0,0067
PBD ²	2,86	2,23	1,89	2,21	0,13	0,0001	0,0004	0,0009
FDN ³	34,57	26,02	24,81	27,07	1,02	<0,0001	<0,0001	<0,0001
FDND ⁴	21,49	13,54	12,27	12,71	0,05	<0,0001	<0,0001	0,0001
FDNcp ⁵	32,85	24,57	23,47	25,60	0,96	<0,0001	<0,0001	<0,0001
FDNcpD ⁶	21,02	13,17	11,85	12,30	0,73	<0,0001	<0,0001	<0,0001
FDA ⁷	21,71	16,21	14,44	15,73	0,04	<0,0001	<0,0001	<0,0001
FDAD ⁸	14,26	9,15	7,37	7,74	0,52	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Ligninas	1,84	1,37	1,34	1,36	0,06	0,0023	0,0019	0,0117
PIDN ⁹	0,94	0,72	0,78	0,76	0,04	0,0030	0,0071	0,0166
PIDA ¹⁰	0,41	0,35	0,33	0,32	0,02	0,0090	0,0016	NS
Extrato etéreo	1,33	1,26	0,87	0,91	0,08	0,0002	<0,0001	NS
CNF ¹¹	22,16	22,59	20,76	23,06	0,98	NS	-	-
Energia bruta	287,86	247,24	231,25	249,62	9,57	0,0020	0,0039	0,0037
Energia digestível	208,65	170,44	155,75	165,47	7,45	0,0002	0,0002	0,0024
Energia metabolizável	177,89	144,56	132,49	145,08	7,29	0,0020	0,0029	0,0049

¹matéria seca por unidade de tamanho metabólico; ²PBD: Proteína bruta digestível; ³FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; ⁴FDND: Fibra insolúvel em detergente neutro digestível; ⁵FDNcp: Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; ⁶FDNcpD: Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína digestível; ⁷FDA: Fibra insolúvel em detergente ácido; ⁸FDAD: Fibra insolúvel em detergente ácido digestível; ⁹PIDN: Proteína insolúvel em detergente neutro (%PB); ¹⁰PIDA: Proteína insolúvel em detergente ácido (%PB); ¹¹CNF: Carboidratos não fibrosos; ¹²Erro padrão da média; ¹³Significância; ¹⁴Linear; ¹⁵Quadrático.

Com o avanço do estágio de maturação houve redução de 48,27% no consumo de proteína bruta (CPB) e 51,32% no consumo de proteína bruta digestível (CPBD) até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (Tabela 7). A recomendação de CPBD por UTM pelo AFRC (1993) para ovinos em manutenção é de $2,46 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0,75} \text{ d}^{-1}$. Apenas o estágio de maturação sem linha de leite forneceu a quantidade de proteína digestível recomendada para manutenção, o que indica a necessidade de suplementação com fontes protéicas. No entanto, a DAPB é um parâmetro de valor relativo, pois pode subestimar a digestibilidade verdadeira devido ao elevado nitrogênio fecal metabólico (Tabela 9) quando os animais consomem dietas fibrosas que aumentam a descamação das células da mucosa intestinal (Van Soest, 1994).

Tabela 8. Digestibilidade por ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação¹

	Linha de Leite				EPM ⁶	P ⁷	Efeito	
	0	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	1			L ⁸	Q ⁹
Matéria seca	67,78	63,97	62,34	61,36	1,02	<0,0001	<0,001	NS
Matéria orgânica	70,03	66,30	64,34	63,47	0,99	<0,0001	<0,0001	NS
Proteína bruta	60,46	54,10	50,03	52,70	1,57	0,0007	0,0007	0,0082
FDN ²	62,08	52,16	49,62	46,64	1,89	<0,0001	<0,0001	0,0336
FDNcp ³	63,83	53,73	50,69	47,69	1,93	<0,0001	<0,0001	0,0411
FDA ⁴	65,51	56,56	51,30	48,81	1,87	<0,0001	<0,0001	0,0491
Extrato etéreo	79,38	76,88	70,02	69,34	2,49	0,0188	0,0028	NS
CNF ⁵	80,54	81,40	82,07	82,07	0,77	NS	-	-
Energia bruta	72,42	68,97	67,29	66,21	0,99	0,0002	<0,0001	NS

¹%; ²FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; ³FDNcp: Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; ⁴FDA: Fibra insolúvel em detergente ácido; ⁵CNF: Carboidratos não fibrosos; ⁶Erro padrão da média; ⁷Significância; ⁸Linear; ⁹Quadrático.

O balanço de nitrogênio (N) é indicador do metabolismo protéico do animal, por ser mais eficiente que o CPB e DAPB para determinar se houve perda de proteína pelo organismo (Andrigueto et al., 1990). Em todos os estádios de maturação o balanço positivo de N indica que as silagens atenderam às exigências nutricionais dos animais. Houve redução de 23,98%, 51,24%, 51,60% e 20,95% no N ingerido, N absorvido, N retido e N retido/N ingerido, respectivamente, até o estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite e aumento de 9,94%, 16,83%, 18,09% e 6,41% no estágio de maturação grão cheio, comparado ao estágio de maturação $\frac{3}{4}$ linha de leite (Tabela 9). Esses resultados podem ter ocorrido devido a inadequada relação CNF:PB (4:1 e 5:1) e as reduções no CPB e DAPB das silagens, que afetaram a fermentação ruminal e captação e utilização do N pelos microrganismos ruminais e, por consequência, a síntese de proteína microbiana. Não houve diferença no N retido/N absorvido. Houve redução

de 49,72% na excreção de N pela urina, o que indica aumento do reaproveitamento de proteína pelos animais (Tabela 9).

Tabela 9. Ingestão, excreção e balanço de nitrogênio (N) por ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

	Linha de Leite				EPM ⁴	P ⁵	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ⁶	Q ⁷
N ingerido ¹	0,7522	0,6566	0,6067	0,6670	0,0273	0,0070	0,0152	0,0067
N fecal ¹	0,2947	0,3001	0,3042	0,3136	0,0145	NS	-	-
N urinário ¹	0,0268	0,0237	0,0184	0,0179	0,0017	0,0024	0,0003	NS
N absorvido ¹	0,4575	0,3565	0,3025	0,3534	0,0201	0,0001	0,0004	0,0009
N retido ¹	0,4307	0,3328	0,2841	0,3355	0,0195	0,0002	0,0008	0,0008
N ret./N ing. ²	0,5682	0,5051	0,4698	0,4999	0,0157	0,0016	0,0023	0,0068
N ret./N abs. ³	0,9390	0,9335	0,9388	0,9471	0,0045	NS	-	-

¹unidade de tamanho metabólico; ²N ret./N ing.: N retido por N ingerido; ³N ret./N abs.: N retido por N absorvido; ⁴Erro padrão da média; ⁵Significância; ⁶Linear; ⁷Quadrático.

A metabolizabilidade (q) mede a eficiência de transferência da EB do alimento para a EM, sendo menor o valor quanto maior a perda de energia pelas fezes, urina e metano (CH₄). Não houve efeito do estádio de maturação sobre a metabolizabilidade na manutenção (qm). A emissão de CH₄ por grama de matéria seca digestível ingerida aumentou 52,62% até o estádio de maturação ¾ linha de leite e diminuiu 26,06% no estádio de maturação grão cheio, comparado ao estádio de maturação ¾ linha de leite (Tabela 6).

Tabela 10. Perdas de energia, emissão de metano (CH₄) e metabolizabilidade da manutenção (qm) de ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

	Linha de Leite				EPM ⁴	P ⁵	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ⁶	Q ⁷
Fezes ¹	27,58	31,03	32,71	33,79	0,99	0,0002	<0,0001	NS
Urina ¹	5,03	3,06	2,19	1,76	0,13	<0,0001	<0,0001	NS
CH ₄ ¹	5,78	7,40	7,97	6,41	0,61	NS	-	-
CH ₄ (g/dia)	19,32	19,89	21,38	17,64	1,07	0,0550	NS	0,0254
CH ₄ (g/dia/IMS) ²	19,65	25,11	27,22	21,63	1,97	0,0524	NS	0,0100
CH ₄ (g/dia/IMSD) ³	29,00	39,29	44,26	35,11	3,40	0,0278	NS	0,0087
Qm	0,62	0,59	0,57	0,58	0,01	NS	-	-

¹% da energia bruta ingerida; ²IMS: Ingestão de matéria seca; ³IMSD: Ingestão de matéria seca digestível; ⁴Erro padrão da média; ⁵Significância; ⁶Linear; ⁷Quadrático.

Independente dos benefícios da maior quantidade de FDN fisicamente efetiva na dieta, partículas de maior comprimento podem limitar o consumo de forragem, devido a redução da taxa de passagem e aumento do enchimento ruminal (Mertens, 1987).

Com o avanço do estágio de maturação houve aumento de 225,39% na proporção de partículas maiores que 19 mm das silagens (30,6% do total de partículas) (Tabela 6) o que, provavelmente, ocasionou aumento no tempo de alimentação, redução nas eficiências de alimentação de MS e FDN, ruminação de FDN (Tabela 11) e aumento na proporção de acetato, precursor do CH₄, produzido no rúmen.

Tabela 11. Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com as silagens do híbrido de milho BRS 3042 colhido em quatro estádios de maturação

	Linha de Leite				EPM ¹¹	P ¹²	Efeito	
	0	¼	¾	1			L ¹³	Q ¹⁴
Alimentação ¹	1,81	1,71	1,85	2,11	0,19	0,0485	0,0247	NS
Ruminação ¹	5,63	5,14	4,69	5,66	0,31	NS	-	-
Ócio ¹	6,38	7,31	7,39	6,22	0,39	0,0024	NS	0,0002
Outras atividades ¹	0,59	0,25	0,47	0,41	0,08	0,0168	NS	0,0542
EALMS ²	640,60	600,06	498,06	480,60	61,27	0,0117	0,0016	NS
EALFDN ³	327,94	267,92	229,33	221,17	29,49	0,0003	<0,0001	NS
ERUMS ⁴	197,43	183,64	185,80	168,17	10,91	NS	-	-
ERUFDN ⁵	100,97	82,15	85,59	76,97	5,21	0,0030	0,0011	NS
TMT ⁶	7,44	6,84	6,54	7,78	0,39	0,0157	NS	0,0027
NBR ⁷	275,52	264,95	254,92	286,31	18,19	NS	-	-
NMBR ⁸	74,44	71,99	67,64	72,60	5,62	NS	-	-
TMBR ⁹	51,12	48,69	46,75	49,69	2,45	NS	-	-
NMM ¹⁰	20.273,00	18.495,00	16.875,00	20.385,00	1110,64	NS	-	-

¹horas por dia (h/dia); ²EALMS: Eficiência de alimentação de matéria seca (g/h); ³EALFDN: Eficiência de alimentação de fibra insolúvel em detergente neutro (g/h); ⁴ERUMS: Eficiência de ruminação de matéria seca; ⁵ERUFDN: Eficiência de ruminação de fibra insolúvel em detergente neutro; ⁶TMT: Tempo de mastigação total (h/dia); ⁷NBR: Número de bolos ruminais (dia); ⁸NMBR: Número de mastigações por bolo ruminal; ⁹TMBR: Tempo de mastigações por bolo ruminal (segundos); ¹⁰NMM: Número de mastigações meréricas (dia); ¹¹Erro padrão da média; ¹²Significância; ¹³Linear; ¹⁴Quadrático.

CONCLUSÃO

O melhor estágio de maturação para ensilagem do híbrido de milho BRS 3042 é sem linha de leite.

REFERÊNCIAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). *Energy and requirements of ruminants*. Wallingford, Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1993.

ANDRIGUETO, J.M.; PERLY, L.; MINARD, I. et al. *Nutrição animal: bases e os fundamentos da nutrição animal*, v.1, Rio de Janeiro: Nobel, 1990. 389p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). *Official methods of analysis*. 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). *Official methods of analysis*. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995, 1025p.

BURGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C. et al. Comportamento ingestivo em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, p.236-242, 2000.

COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. *Fundamentos de nutrição dos ruminantes*. Piracicaba: Livrocere, 1979. 380p.

DER BEDROSIAN, M.C.; KUNG JR., L.; NESTOR JR., K.E. The effects of hybrid, maturity and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.5115-5126, 2012.

FERRARETTO, L.F.; SHAVER, R.D.; LUCK, B.D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *Journal of Dairy Science*, v.101 p.3937-3951, 2018.

FERRARETTO, L.F.; SHAVER R.D.; MASSIE, S. et al. Effect of ensiling time and hybrid type on fermentation profile, nitrogen fractions and ruminal in vitro starch and NDF digestibility in whole-plant corn silage. *The Professional Animal Scientist*, v.31, p.146-152, 2015.

FERRARETTO, L.F.; SHAVER, R.D. Meta-analysis: Impact of corn silage harvest practices on intake, digestion and milk production by dairy cows. *The Professional Animal Scientist*, v.28, p.141-149, 2012.

HALL, M.B. Determination of starch, including maltooligosaccharides, in animal feeds: comparison of methods and a method recommended for AOAC collaborative study. *Journal of Association of Official Analytical Chemist International*, v.92, n.1, p.42-49, 2009.

HEINRICHS, J.; KONONOFF, P.J. Evaluating particle size of forages and TMRs using the New Penn State Forage Particle Separator. Pennsylvania State University. College of Agricultural Sciences. *Cooperative Extension DAS 02-42*, p.1-14, 2002.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of Animal Science*, v.68, n.11, p.3832-3842, 1999.

KLEIBER, M. The fire of life. An introduction to animal energetics. John Wiley and Sons, Inc., New York: London, 1961. 454p.

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

MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. *The biochemistry of silage*. 2.ed. Marlow, UK: Chalcombe Publications, 1991.

MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *Journal of Dairy Science*, v.64, p.1548-1558, 1987.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). *Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids*. Washington, D.C.: National Academy Press, 2007. 362p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). *Nutrient requirements of dairy cattle*, 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Science, 2001.

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.

RODRIGUEZ, N.M.; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L. et al. A calorimetry system for metabolismo trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, p.495-500, 2007.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.

TILLEY, J.M.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

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

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

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L.G.; MARI, L.J. et al. Alterações na composição morfológica em função do estágio de maturação em cultivares de milho para produção de silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.3, p.452-461, 2009a.

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. et al. Relações biométricas entre o estágio de maturação e a produtividade de híbridos de milho para produção de silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.2, p.256-264, 2009b.