

**HELVÉCIO TEIXEIRA VAZ DE OLIVEIRA**

**Avaliação nutricional de silagens de milho normal e com perfil de aminoácidos modificados**

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de Concentração: Nutrição Animal  
Orientador: Prof. Norberto Mario Rodriguez

**Belo Horizonte - Minas Gerais  
Escola de Veterinária - UFMG  
2006**

xxxx Vaz de Oliveira, Helvécio Teixeira, 1963-  
Avaliação nutricional de silagens de milho (*Zea mays* L.) normais e de perfil modificado de aminoácidos (QPM) para bovinos leiteiros / Helvécio Teixeira Vaz de Oliveira. - 2006.  
xx p. : il.

Orientador: Norberto Mario Rodriguez  
Co-orientador: Lúcio Carlos Gonçalves  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

1. xx – Teses. 2. xx – Alimentação e rações –  
Teses. 3. xx – Alimentação e rações – Teses. 4. xx – Teses.  
5. xx – Teses. I. Rodriguez, Norberto Mario. II. Gonçalves, Lúcio Carlos.  
III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

CDD – xx

Tese defendida e aprovada em 13 de outubro de 2006, pela Comissão Examinadora composta por:

---

Prof. Norberto Mario Rodriguez  
Orientador

---

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves

---

Prof. Iran Borges

---

Dr. Jailton da Costa Carneiro

---

Dr. Roberto Camargos Antunes



## **DEDICATÓRIA**

**Dedico este trabalho à minha família.**

## AGRADECIMENTOS

À minha esposa Káthia e aos meus filhos Luciana e Antônio José, minhas fontes renovadoras de vida.

Ao meu Pai Múcio (*In Memoriam*), que sempre me empurra do lugar de onde está e à minha Mãe Anelita que sei que reza por mim diariamente.

Ao professor Norberto Mario Rodriguez, amigo e orientador, pelos ensinamentos imprescindíveis que levarei comigo pelo resto da vida.

Aos professores e, especialmente, grandes amigos, Lúcio Carlos Gonçalves e Iran Borges, que não mediram esforços para me nortear nos momentos mais difíceis, pelos valiosos ensinamentos, tão fundamentais para minha formação; saibam que os trarei no coração eternamente pelo apoio incondicional que me deram em todos os momentos, pela generosidade sem limite, pelo exemplo explícito de humanização.

Ao professor e amigo Ronaldo Braga Reis, pelos valiosos ensinamentos ao longo do mestrado e do doutorado e pela tradicional cobrança acima dos limites mostrando que sempre podemos mais que pensamos.

À professora Eloísa Oliveira Simões Saliba pelos valiosos ensinamentos, pela disponibilidade e boa vontade em ajudar e ensinar sempre.

Aos professores e amigos da UFMG, minha segunda casa, pelos ensinamentos e pela amizade.

À Equipe Prodap, pelo eterno espírito de luta.

Ao grande amigo e, certamente, futuro destaque no âmbito da pesquisa nacional dentro do CNPq, Roberto Camargos Antunes (Bob), pela amizade, disposição e encorajamento.

Aos amigos Warley Efrem Campos e Roberto Guimarães Jr., pela grande ajuda na parte estatística e na montagem final da tese.

Ao pessoal da Embrapa Gado de Leite pela ajuda na condução dos experimentos e pela amizade.

Aos pesquisadores da Embrapa; Jailton da Costa Carneiro e Jackson Oliveira pelo apoio na idealização, condução e análises dos experimentos.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição da Escola de Veterinária da UFMG, Toninho, Carlos, Kelly, Margarida, Marcos, Ana Paula, Margot e Júnior por toda a ajuda nas análises e pela amizade.

Aos demais colegas da pós-graduação e graduação pelo bom relacionamento e amizade.

Aos Funcionários do Colegiado de Pós-Graduação Nilda, Luciene e Eustáquio pela amizade e disponibilidade.

À Claudinha (da Editora) pela ajuda na formatação e pela amizade.

A todos que me ajudaram, pois certamente esqueci de citar muitos nomes, muito obrigado!

**“...tropeça, cai, levanta, anda outra vez, grande estrada...  
...mas é a da vida.”**

**Guimarães Rosa**



## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	10
RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	14
2.1. Genótipos de milho de perfil modificado de aminoácidos (QPM) .....	14
2.1.1. Histórico do melhoramento genético da qualidade protéica do milho.....	14
2.1.2. Composição protéica do milho normal <i>versus</i> milho QPM.....	15
2.1.3. Utilização de milhos de perfil modificado de aminoácidos para a produção de silagem .....	16
2.1.4. Modificações da matéria seca durante a ensilagem .....	17
2.1.5. Modificações das frações de carboidratos durante a ensilagem .....	18
2.1.6. Modificações da fração protéica .....	19
2.2. Consumo.....	20
2.2.1. Fatores envolvidos na regulação do consumo .....	20
2.2.2. Consumo e digestibilidade.....	21
2.2.3. Componentes fibrosos, proteína bruta e aminoácidos sobre o consumo e a digestibilidade.....	22
2.3. Degradabilidade <i>in situ</i> .....	24
2.3.1. Fontes de variação da técnica .....	25
2.3.2. Modelagem da degradabilidade <i>in situ</i> .....	25
2.4. Técnica <i>in vitro</i> semi automática de produção de gases .....	27
2.4.1. Procedimento experimental .....	27
2.5. Digestibilidade <i>in vitro</i> (Tilley e Terry) .....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1. Considerações gerais .....	29
3.2. Descrição dos materiais .....	29
3.2.1. Descrição das silagens .....	29
3.2.2. Descrição do concentrado.....	29
3.3. Descrição dos animais .....	30
3.4. Análises bromatológicas.....	30
3.5. Degradabilidade <i>in situ</i> .....	30
3.6. Avaliação do consumo .....	30
3.7. Produção de leite e dos componentes .....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1. Qualidade das silagens .....	32
4.2. Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca das silagens.....	33
4.3. Degradabilidade <i>in situ</i> da matéria seca das silagens .....	33
4.4. Parâmetros ruminais .....	34
4.4.2. Valores de pH.....	35
4.4.3. Produção de leite e dos componentes .....	36
5. CONCLUSÕES GERAIS .....	37
6. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Conteúdo de aminoácidos essenciais da proteína dos grãos de dois cultivares de milho de perfil modificado de aminoácidos (BR 473 e BR 451) e de um cultivar de milho comum (BR 136), em mg de aminoácidos/g de proteína do endosperma.....	14
Tabela 2- Composição protéica e o conteúdo de lisina em mutantes de milhos <i>opaque</i> .....	16
Tabela 3. Composição da matéria seca e consumo voluntário das silagens de milho.....	32
Tabela 4. Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS), nutrientes digestíveis totais (NDT) e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica das silagens.....	33
Tabela 5- Desaparecimento médio (%) da MS das silagens de três híbridos de milho de em função dos tempos de incubação no rúmen de vacas leiteiras recebendo dietas com três tipos de silagens.....	33
Tabela 6. Parâmetros de degradação ruminal da matéria seca em vacas alimentadas com três as silagens.....	34
Tabela 7. Valores de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal (N-NH <sub>3</sub> em mg %)......	35
Tabela 8. Valores de pH do líquido ruminal de vacas leiteiras submetidas à dieta contendo 3 tipos de silagens de milho.....	36
Tabela 9. Produção diária média, média percentual de gordura, média percentual de proteína, produção média de lactose, extrato seco total (média diária) e escore corporal médio de vacas alimentadas com três silagens de milho.....	37

## RESUMO

O valor nutricional das silagens de três híbridos de milho (AG1051, 97HT131 e 97HT129), sendo os dois últimos classificados como de “Qualidade Protéica Modificada” (QPM), foi avaliado em ensaio realizado nas dependências da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco-MG, e Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG, em Belo Horizonte-MG, entre julho e agosto de 2003. Foram mensurados a composição química, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e orgânica, degradabilidade *in situ* da matéria seca, parâmetros da fermentação ruminal, consumo e produções de leite e dos componentes. Foram utilizadas 21 vacas de graus de sangue F1 até 7/8 Holandês/Gir, de primeira até a quarta lactações, entre 50 e 90 dias de lactação, divididas em blocos ao acaso balanceado, e 3 vacas fistuladas, em duplo quadrado latino. Não foram verificadas diferenças nos valores de composição química, de digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica, nos valores de nutrientes digestíveis totais, nos parâmetros de degradabilidade *in situ* da matéria seca, no consumo e nas produções de leite e dos componentes das três silagens. Dessa forma, pode-se concluir que não houve vantagem na utilização de silagens confeccionadas com híbridos de milho com qualidade protéica modificada em relação ao híbrido testemunha para vacas de leite em lactação.

**Palavras chave:** consumo voluntário, digestibilidade, produção de leite e de componentes, ruminante, valor nutricional.

## ABSTRACT

The nutritional value of three maize's hybrids silages (AG1051, 97HT131, and 97HT129), being the two last ones classified as "Quality Protein Maize" (QPM), was evaluated in assay carried out in the dependences of the Embrapa Gado de Leite, in Colonel Pacheco-MG, and Laboratory of Animal Nutrition of the School of Veterinary Medicine, in Belo Horizonte-MG, between July and August, 2003. It was evaluates the chemical composition, the dry and organic matter *in vitro* digestibility, *in situ* dry matter degradability, ruminal fermentation pattern, voluntary intake and milk and its components production. 21 cows (1/2 up to 7/8 Holstein/Zebu), from first until the fourth lactations, between 50 and 90 days of lactation, divided in random block design, and three rumen fistulated cows, in double Latin square, were used. Differences in the values of chemical composition, dry and organic matter *in vitro* digestibility, *in situ* dry matter degradability, ruminal fermentation patterns, voluntary intake and milk and its constituents production of the three silages had not been verified. It can be concluded that didn't have advantage in use of silages of QPM's maize hybrids in relation to the conventional hybrid for feed milk cows in lactation.

**Keywords:** voluntary intake, digestibility, milk and constituents production, ruminant, nutritional value.

## 1. INTRODUÇÃO

Nos sistemas de produção de leite de gado especializado em confinamento a silagem de milho é um dos principais volumosos utilizados. Nos demais sistemas, esse volumoso é também é comumente utilizado como suplemento dos animais durante os períodos de seca, quando a produção de forragens das pastagens diminui devido às quedas de temperatura, luminosidade e pluviosidade. A ensilagem é uma prática de conservação de forragens baseada na fermentação ácido-láctica espontânea sobre condições de anaerobiose. Várias culturas podem ser utilizadas para sua produção, sendo as culturas do milho e sorgo as mais tradicionais.

Segundo o Instituto... (1996), foram plantados 362 mil hectares de milho forrageiro no Brasil e a produção foi de mais de cinco milhões de toneladas. Esta produção em 2006 foi de 42.170,49 mil toneladas. Segundo dados da Organização... (2006), a área cultivada com milho no Brasil em 2005 foi de 12,41 mi de hectares. No Estado de Minas Gerais, em 2002, a área plantada de milho destinada à produção de silagem foi de 164.702 ha, demonstrando a importância desta gramínea nos sistemas de produção de ruminantes.

A cultivar de milho tem grande importância no custo de produção da silagem, no desempenho dos animais e, conseqüentemente, no retorno que o produtor consegue em sua atividade. A maioria das cultivares disponíveis no mercado é destinada à produção de grãos. As características mais importantes para o uso de um cultivar/híbrido de milho como silagem são a produção e o valor nutritivo da massa ensilada. A produtividade é importante porque diminui o custo por tonelada ensilada. Já a qualidade possibilita menor gasto com concentrados, além de aumentar o consumo pelos animais.

A utilização de silagens de milho produzida a partir de materiais com perfil modificado de aminoácidos, conhecidos como “Quality Protein Maize” (QPM) poderá repercutir em aumentos da produção e da produtividade de leite, devido ao valor nutricional superior. Os milhos com perfil modificado de aminoácidos apresentam maiores teores de lisina e triptofano, além de 0,5% a mais de extrato etéreo. Ressalta-se que a lisina é considerada um dos aminoácidos limitantes para vacas leiteiras.

Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar o valor nutricional, por meio de provas de desempenho e digestibilidade, de três silagens de milho: o AG1051, o 97HT131 (QPM) e o 97HT129 (QPM), sendo os dois últimos com perfil modificado de aminoácidos, para vacas leiteiras em lactação.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Genótipos de milho de perfil modificado de aminoácidos (QPM)

#### 2.1.1. Histórico do melhoramento genético da qualidade protéica do milho

Antes da década de 60, as pesquisas com melhoramento genético da qualidade protéica do milho foram limitadas à classificação de germoplasmas-elite para essa característica. No entanto, como genes específicos responsáveis pelo melhoramento da qualidade protéica do milho foram identificados na época, a estratégia de melhoramento genético baseada em seleções recorrentes de milho não obteve sucesso (Vasal, 1999; Garcia e Souza Jr., 2002).

A partir da década de 60, os melhoristas de cereais intensificaram as pesquisas de genes mutantes que poderiam melhorar a qualidade protéica do milho, em virtude do insucesso dos métodos de seleção genética adotados até então. Dessa forma, pesquisadores da Universidade de Purdue, EUA, descobriram em 1963 (Mertz *et al.*, 1964) que uma mutação designada como *opaque-2* (*o2*) mais que dobrava o valor nutricional do milho em relação aos

genótipos normais. Logo após foi descoberta outra mutação designada como *floury-2* (*fl-2*), que também tinha a habilidade de alterar a qualidade protéica do endosperma.

Essas mutações, cujas denominações derivaram do endosperma macio e farináceo dos grãos, modificam o perfil de aminoácidos devido à alteração da composição das proteínas do milho, resultando no aumento de mais de duas vezes nos níveis de lisina e de triptofano em comparação com os genótipos normais. De acordo com Mertz *et al.* (1964), os níveis de lisina dos milhos mutantes *opaque-2* são de 3,3 a 4,0g por 100g de PB, enquanto nos milhos normais são de 1,3g por 100g de PB. Valores semelhantes foram citados por Guimarães *et al.* (2004) para o milho mutante BR 473. Já Naves *et al.* (2004) encontraram valores de lisina ligeiramente superiores para os milhos mutantes BR 473 e BR 451, conforme visto na Tabela 1. Além disso, os níveis de outros aminoácidos essenciais como histidina, arginina e ácido aspártico também estão aumentados, enquanto os níveis de aminoácidos não essenciais como ácido glutâmico, alanina e leucina estão reduzidos.

A descoberta das mutações *opaque-2* e *floury-2* no milho geraram otimismo e interesse no melhoramento genético dos

Tabela 1- Conteúdo de aminoácidos essenciais da proteína dos grãos de dois cultivares de milho de perfil modificado de aminoácidos (BR 473 e BR 451) e de um cultivar de milho comum (BR 136), em mg de aminoácidos/g de proteína do endosperma

Aminoácidos	BR 473	BR 451	BR 136
Isoleucina	40,1	36,1	38,1
Leucina	112,6	115,0	137,0
Lisina	51,6	60,2	29,8
Metionina + cistina	32,2	31,6	28,5
Treonina	41,8	45,4	34,2
Triptofano	10,3	11,2	6,6
Valina	63,1	62,1	52,7

Fonte: Naves *et al.* (2004).

cereais em várias partes do mundo, pois se acreditou que as mutações poderiam levar ao rápido desenvolvimento de cereais melhorados quanto aos teores de aminoácidos essenciais. Os programas de melhoramento iniciaram-se no milho, com o objetivo de desenvolver várias linhas de mutantes com diferentes qualidades de endospermas. Porém, mais tarde, os efeitos indesejáveis das mutações sobre as características agrônômicas foram descobertos e os programas de melhoramento foram descontinuados (Prasanna *et al.*, 2001).

Os principais efeitos indesejáveis causados pelas mutações *opaque-2* e *floury-2* incluem a baixa produção de grãos por espiga e por área, grãos com a aparência opaca e com endosperma macio (Vasal, 1999; Gibbon e Larkins, 2005). Essas características propiciam elevada taxa de quebra de grãos durante a colheita, aumento das susceptibilidades ao ataque de fungos e insetos e pior qualidade do fubá para a confecção de alimentos a base de milho, o que contribuíram para a baixa aceitabilidade dos materiais mutantes pelos agricultores (Garcia e Souza Jr., 2002; Crow e Dove, 2002; Pixley e Bjarnason, 2002).

Com o objetivo de reduzir os efeitos indesejáveis causados pelo endosperma macio dos grãos de milho com as mutações *opaque-2* e *floury-2*, alguns estudos foram conduzidos tentando descobrir os motivos que levavam essas mutações a interferir na textura do endosperma do grão de milho. Dessa forma, foram descobertos os “genes *o2* modificadores da textura do endosperma”, que possuem a capacidade de converter o endosperma macio e farináceo dos milhos mutantes em endosperma vítreo e duro, conservando a qualidade protéica (Geetha *et al.*, 1991).

Segundo Prasanna *et al.* (2001), melhoristas de plantas do “Centro Internacional de

Mejoramiento de Maíz e Trigo” (CIMMYT), México, por meio da introdução sistemática dos “genes *o2* modificadores da textura do endosperma” nos germoplasmas mutantes *opaque-2*, conseguiram produzir linhagens de milho QPM com endosperma vítreo com manutenção da qualidade protéica superior. No Brasil, a Embrapa Milho e Sorgo tem desenvolvido desde 1980 cultivares comerciais de milho QPM adaptados a várias regiões do Brasil. Os principais genótipos de milho desenvolvidos foram o BR 473 e o BR 451, destinados à alimentação humana e com características de produção desejáveis (Guimarães *et al.* 2004).

### **2.1.2. Composição protéica do milho normal versus milho QPM**

O grão do milho pode ser dividido em pericarpo, germe e endosperma, representando 6%, 12% e 82% do total (peso/peso) respectivamente. O pericarpo é a membrana externa fibrosa, que apresenta a função de proteção dos grãos ao ataque de insetos e microrganismos. O germe é a estrutura germinativa que encerra o embrião do grão, sendo rico em óleo e nas proteínas albumina e globulina. O endosperma é a estrutura de reserva, encerrando quase a totalidade do amido e das prolaminas ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -zeínas) e da glutelina do grão (Chandrashekar e Mazhar, 1999).

Nos milhos normais, as albuminas, as globulinas, a glutelina e as zeínas representam, aproximadamente, 3%, 3%, 34% e 60% da proteína bruta total, respectivamente. As zeínas são as proteínas mais pobres em aminoácidos essenciais, apresentando concentrações traço de lisina e triptofano (Misra *et al.*, 1975; Azevedo *et al.*, 2004), com destaque para a  $\alpha$ -zeína, que representa mais de 70% das zeínas (Huang *et al.*, 2004). Esse perfil das

Tabela 2- Composição protéica e o conteúdo de lisina em mutantes de milhos *opaque*

<b>Linhagem</b>	<b>PB (%)</b>	<b>PB da zeína (%)</b>	<b>PB de outras proteínas (%)</b>	<b>Lisina (%)</b>
W64Ao1	12,8	8,5	2,1	1,7
W64Ao2	10,1	2,9	3,6	3,8
W64Ao5	11,5	6,4	2,0	2,1
W64Ao11	12,0	6,4	3,4	2,8

Fonte: Gibbon e Larkins (2005)

proteínas torna o milho um cereal de baixa qualidade protéica para monogástricos.

A relação negativa existente entre os níveis de zeínas e de lisina é demonstrada na Tabela 2. Conforme pode ser visto, o genótipo de milho W64Ao2 (milho de composição protéica normal) apresentou a maior porcentagem de zeína em relação à PB (66,4%) e foi o que apresentou a menor porcentagem de lisina (1,7% da PB total). Já o genótipo W64Ao2 (milho QPM) foi o que apresentou a menor porcentagem de zeína em relação à PB (28,7%), apresentando mais que o dobro de lisina (3,8% da PB total).

Nos milhos mutantes *opaque-2* os níveis de  $\alpha$ -zeínas estão reduzidos e nos mutantes *floury-2* todas as quatro classes de zeínas estão reduzidos. Isso explica em parte o aumento proporcional dos níveis de lisina e triptofano nos milhos mutantes, devido à elevação dos níveis das outras proteínas não-zeínas como albuminas, globulinas e glutelina, com maiores níveis de aminoácidos essenciais (Azevedo *et al.*, 2003; Gibbon e Larkins, 2005). Porém, há também evidências de que a atividade das enzimas envolvidas no catabolismo da lisina nos grãos de milho em formação seja mais baixa nos genótipos mutantes, o que contribui para o aumento da disponibilidade de lisina para a síntese de albuminas e globulinas no grão (Azevedo *et al.*, 2004). O aumento dos níveis de lisina e triptofano nos milhos mutantes reflete o valor nutritivo para monogástricos. De acordo com Prasanna *et al.* (2001), o valor

biológico da PB do milho mutante é de 80% enquanto o do milho normal é de 45%.

### 2.1.3. Utilização de milhos de perfil modificado de aminoácidos para a produção de silagem

A planta inteira do milho é uma das principais fontes forrageiras utilizadas para a produção de silagem. Apresenta características agronômicas favoráveis como a elevada produção de massa/ha, adaptabilidade e boa resistência a doenças e também por oferecer as condições favoráveis para a ensilagem como o teor de matéria seca adequado (30-35%) no momento da ensilagem, elevado teor de carboidratos solúveis e baixo poder de tamponamento, o que permite rápida queda do pH da silagem com boa conservação do material ensilado por longos períodos (McDonald *et al.*, 1991).

Diversos genótipos de milho com características agronômicas e composição química da forragem distintas têm sido utilizados para a produção de silagens de boa qualidade. Dentre esses se destacam os genótipos mutantes *Brown Midrib* (BM-3), que apresentam maior digestibilidade das frações fibrosas (Bal *et al.*, 2000); os genótipos ricos em óleo no grão (Drackley, 1997), determinando maior teor de extrato etéreo na massa ensilada; os genótipos com maior relação de folhas/colmo (Kuehn *et al.*, 1999) e os genótipos que apresentam grãos com diferentes texturas do endosperma (Philippeau e Michalet-Doreau, 1997). No entanto, não há, até o presente



momento, relatos de trabalhos científicos que pesquisaram a utilização da planta inteira do milho de perfil modificado de aminoácidos para a produção de silagem, ao contrário da utilização dos grãos desses genótipos na alimentação humana e animal.

De acordo com McDonald *et al.* (1991), a ensilagem é o processo bioquímico capaz de conservar da forragem úmida por um meio da fermentação anaeróbica controlada. A ensilagem, no entanto, promove modificações na composição química da forragem ensilada, podendo levar à modificação do valor nutritivo da forragem e também a perdas de matéria seca. Dentre as modificações mais evidentes, destacam-se o consumo dos carboidratos solúveis e da parede celular e as modificações na fração protéica, levando à redução da digestibilidade da massa ensilada em relação à forragem original (Doane *et al.*, 1996). Estas principais modificações bioquímicas sofridas pela forragem durante o processo da ensilagem são descritas abaixo.

#### **2.1.4. Modificações da matéria seca durante a ensilagem**

Durante a ensilagem, as principais perdas de matéria seca no silo ocorrem devido a perdas de efluentes, a perdas de nutrientes por espoliação por microrganismos indesejáveis como fungos e leveduras e à perda de gases oriundos da fermentação anaeróbica como o CO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub> ou CH<sub>4</sub> (Gordon, 1967).

A produção de efluentes no silo está altamente correlacionada com o teor de matéria seca da forragem ensilada. De acordo com Castle e Watson (1973), que avaliaram as perdas de efluentes das silagens produzidas com 38 forrageiras com diferentes estádios de maturidade, o teor de matéria seca mínimo da forragem para que não houvesse produção significativa de

efluentes foi de 24-25%. Segundo McDonald *et al.* (1991), silagens produzidas com forrageiras com mais de 29% de matéria seca provavelmente não geram efluentes. Para minimizar as perdas de matéria seca e de nutrientes por meio de efluentes, recomenda-se que a forragem do milho seja ensilada com 30 a 35% de MS. Além disto, deve-se ressaltar que, dependendo da quantidade produzida, os efluentes se tornam sério problema ambiental devido à elevada capacidade poluidora dos solos e das águas.

Segundo Ruxton *et al.* (1975), a ação espoliativa da massa ensilada por microrganismos indesejáveis como os fungos constitui-se importante mecanismo de perda de matéria seca e também da qualidade da silagem. Estes microrganismos somente crescem durante a ensilagem em condições de aerobiose, ocasionado pela má vedação ou má compactação da massa ensilada. Os fungos consomem os carboidratos solúveis e o ácido láctico do material ensilado exposto ao ar, ocasionando não só perdas de matéria seca como o aumento do pH das silagens e deterioração da massa ensilada (O'Kiely e Muck, 1992).

Dentre os principais fatores envolvidos nas perdas de matéria seca em silos devido à penetração de ar na massa ensilada estão a baixa intensidade da compactação, excessiva capacidade de armazenamento do silo conduzindo à demora no preenchimento do silo e à excessiva exposição da forragem ao ar e o elevado teor de matéria seca da forragem, que reduz a eficiência na compactação da forragem (McDonald *et al.*, 1991; Mills e Kung Jr., 2002).

### 2.1.5. Modificações das frações de carboidratos durante a ensilagem

A fração dos carboidratos não estruturais e solúveis em água é intensamente consumida nas primeiras horas de ensilagem pela respiração das plantas e pelos microrganismos anaeróbicos epifíticos. Porém, a fração dos carboidratos estruturais e não solúveis em água, mesmo que consumida com menor intensidade, também fornece parte da energia para a fermentação (Morrison, 1979). Dessa forma, segundo McDonald *et al.* (1991), o consumo de carboidratos solúveis com redução das frações mais digestíveis e aumento proporcional das frações menos digestíveis pode levar à redução do valor nutritivo da silagem quando comparada com a forragem fresca.

A concentração de carboidratos solúveis na forragem é um dos principais pré-requisitos para a promoção de uma fermentação adequada da forragem (McDonald *et al.*, 1991; Davies *et al.*, 1998). A forragem do milho possui entre 6-8% de carboidratos solúveis na época da ensilagem (30-35% de MS), sendo estes valores considerados adequados para a promoção da fermentação láctica (Kautz, 1997).

Os principais carboidratos solúveis no milho são: a sacarose (60-75% dos carboidratos solúveis), a frutose e a glicose (McAllan e Phipps, 1977). Essa fração dos carboidratos é rapidamente consumida na massa ensilada nos primeiros dias da ensilagem. Segundo McAllan e Phipps (1977), os carboidratos solúveis na silagem de milho (7,4 a 9,3%, na MS) foram quase completamente consumidos dentro dos três primeiros dias de ensilagem com intensa formação de ácido láctico, o principal produto final da fermentação anaeróbica. Segundo Pettersson e Lindgren (1990), a respiração celular apresenta importante papel no consumo dos carboidratos solúveis

nos primeiros momentos da ensilagem, enquanto ainda há oxigênio residual na massa ensilada. Segundo Muck (1988), no entanto, a ação da respiração celular sobre o consumo de carboidratos e sobre as perdas de matéria seca em silos adequadamente vedados é pouco significativa. Porém, torna-se um dos principais promotores de redução da qualidade da silagem quando o tempo de vedação do silo é excessivamente demorado.

O ácido láctico é o principal produto da fermentação dos carboidratos solúveis quando a fermentação é dominada por bactérias ácido-lácticas homofermentativas. A síntese de ácido láctico promove queda do pH da silagem, sendo este o principal mecanismo responsável pela conservação do material ensilado (McDonald *et al.*, 1991; Davies *et al.*, 1998). No entanto, quando as condições de ensilagem não são adequadas, pode ocorrer expressiva fermentação dos carboidratos solúveis por enterobactérias, gerando a síntese de quantidades substanciais de ácido acético; por clostrídios, que fermentam o ácido láctico à ácido butírico, e por leveduras, que fermentam os carboidratos solúveis a etanol (Fisher e Burns, 1987).

De outra forma, o amido dos grãos não atua como fonte de carboidratos para a fermentação durante a ensilagem (Fisher e Burns, 1987) porque as bactérias ácido-lácticas e outros microrganismos não possuem a capacidade de utilizar o amido diretamente por causa da baixa solubilidade do mesmo em ambiente ácido (McDonald *et al.*, 1991).

A hemicelulose é o principal carboidrato estrutural consumido durante a fermentação, embora a celulose também possa ser utilizada como fonte de energia. Há relatos na literatura de que até 30% da hemicelulose e até 15% da celulose foram

consumidos após 150 dias de ensilagem do milho (McAllan e Phipps, 1977). Os consumos de hemicelulose e de celulose foram de 15 e 5%, respectivamente, aos 150 dias de ensilagem do milho (Morrison, 1979).

Com a degradação da hemicelulose, há redução dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) da massa ensilada quando comparada com a forragem não ensilada. Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e de lignina, ao contrário, permanecem constantes ou tendem a aumentar durante a ensilagem (McDonald *et al.*, 1991). Essa redução da relação FDN/FDA que ocorre durante a ensilagem está negativamente correlacionada com a digestibilidade da silagem, ajudando a explicar a redução do valor nutritivo da silagem em relação à forragem não ensilada (Van Soest, 1994).

### 2.1.6. Modificações da fração protéica

A maior porcentagem do nitrogênio total armazenado pelas plantas (75 a 90%) está na forma de proteína verdadeira, sendo a maior fração representada pela ribulose-1,5-difosfato carboxilase. O restante encontra-se como nitrogênio não protéico, sendo composto por aminoácidos livres, peptídeos, amidas, nucleotídeos, clorofila e nitratos (McDonald *et al.*, 1991). Porém, tanto as reações de proteólise e de deaminação ocorrem extensamente durante a fase inicial da ensilagem e podem contribuir sensivelmente para a redução da qualidade protéica da silagem quando comparadas à forragem fresca, influenciado negativamente o consumo e o valor nutritivo da silagem.

A reação da proteólise, hidrólise da proteína verdadeira das plantas, ocorre intensamente após a colheita e ensilagem da forragem, transformando a maioria da proteína

verdadeira em compostos nitrogenados não protéicos (até 80% do nitrogênio total). A extensa redução da fração protéica verdadeira se deve, principalmente, à ação das enzimas proteolíticas da própria planta (Davies *et al.*, 1998).

A principal preocupação em se tentar minimizar a intensidade da proteólise durante a ensilagem se deve ao fato de que os compostos nitrogenados não protéicos gerados são menos eficientemente utilizados para a síntese protéica pelos microrganismos ruminais devido à falta de sincronização energia:proteína no rúmen (Harrison *et al.*, 1994; Messman *et al.*, 1994). Desta forma, mesmo que o teor de proteína bruta da dieta possa ser adequado, há a necessidade de se adicionar fontes de proteína de alta qualidade e mais lentamente degradadas ruminalmente na dieta para se obter a ótima produtividade de leite, o que incorre em custos adicionais (Muck, 1988).

A proteólise é influenciada por fatores como a espécie da forragem, a taxa de queda do pH do meio, a temperatura, o teor de matéria seca da forragem e o tempo de ensilagem (Ohshima e McDonald, 1978; Ohshima *et al.*, 1979; Mustafa *et al.*, 2002). Jones *et al.* (1995) mostraram que a extensão da proteólise na alfafa foi maior que no trevo vermelho *in vitro*, variando de 44-87% e de 7-40%, respectivamente. Fairbairn *et al.* (1992) concluíram que a extensão da proteólise, medida aos sete dias de ensilagem, foi maior para a alfafa que para o milho, sendo explicada pela menor taxa de queda do pH da silagem de alfafa em relação à silagem de milho. Isso ocorre porque a atividade das enzimas proteolíticas é máxima quando o pH do meio está em torno de 5-6. Segundo Muck (1988), a atividade das enzimas proteolíticas cai linearmente com a queda do pH do meio. Em pH 4,0, somente cerca de 15 a 35% da atividade proteolítica é preservada.

A reação de deaminação ocorre devido à degradação de aminoácidos livres presentes na silagem. Porém, diferentemente da proteólise, esta reação ocorre devido à ação de enzimas produzidas dos microrganismos anaeróbicos. Os principais microrganismos anaeróbicos responsáveis pela deaminação são clostrídios, que também podem promover a degradação de aminoácidos por descarboxilação e por reações de oxirredução. Nestas reações, são gerados compostos como a amônia, gás carbônico, aminas (histamina, cadaverina e putrecina), amidas e ácidos graxos voláteis (principalmente ácido butírico), todos relacionados negativamente com a qualidade das silagens (Ohshima e McDonald, 1978; Mills e Kung Jr., 2002). Estes compostos químicos indesejáveis na silagem em quantidades apreciáveis promovem a redução do consumo, além de alguns deles serem potencialmente tóxicos para os animais (Muck, 1988).

A fermentação indesejável realizada por clostrídios pode elevar os níveis de nitrogênio amoniacal das silagens a até mais de 30% do nitrogênio total, sendo este um indicador da degradação de aminoácidos (Ohshima *et al.*, 1979). Por outro lado, silagens de milho bem preservadas possuíam menos de 6,0% de nitrogênio amoniacal (Maia, 2001; Antunes, 2001) e silagens de sorgo menos de 8,0% de nitrogênio amoniacal aos 56 dias de fermentação (Rocha Júnior, 1999).

Como descrito anteriormente, a principal diferença dos genótipos de milho de perfil modificado de aminoácidos sobre os genótipos de milho normais é a maior concentração das proteínas albuminas e globulinas, que estão presentes no germe dos grãos. Estas são proteínas solúveis em água e em soluções salinas, respectivamente (Altschul, 1961). Dessa forma, espera-se que estas proteínas sofram intenso processo de proteólise e deaminação durante a ensilagem, o que pode anular o efeito

positivo do perfil favorável de aminoácidos. Além disso, deve-se considerar a intensa degradação que proteínas como as albuminas e globulinas do milho sofrem durante a fermentação ruminal, podendo não contribuir para a melhoria do perfil de aminoácidos absorvidos no intestino delgado pelos ruminantes.

## 2.2. Consumo

O consumo voluntário corresponde à quantidade total de matéria seca ingerida por um animal ou grupo de animais durante o período de tempo no qual estes têm livre acesso ao alimento, sendo esse período. Geralmente, o período tomado é um dia. Se o consumo de alimentos for abaixo do esperado, provavelmente haverá depressão de produção, fazendo com que a energia metabolizável seja utilizada para preencher as necessidades de manutenção, resultando em redução da conversão alimentar. Quando o nível de consumo é superior ao esperado, poderá haver deposição excessiva de gordura na carcaça. Assim, o nutricionista deve adequar a quantidade e a qualidade da dieta às necessidades nutricionais do animal (Forbes, 1995).

### 2.2.1. Fatores envolvidos na regulação do consumo

O consumo voluntário pode ser influenciado por fatores físicos e fisiológicos, sendo que a importância desses fatores varia em função da digestibilidade. Os fatores físicos têm mais importância em dietas com baixas digestibilidades e os fatores fisiológicos em dietas de alta digestibilidade (Conrad *et al.*, 1964). Os fatores físicos estão relacionados à qualidade do alimento oferecido como: teor de MS, palatabilidade, relação concentrado/volumoso da dieta, distensão física do rúmen, retículo e abomaso,

tamanho de partícula, além do efeito da mastigação, salivagem e motilidade ruminal. Os fatores fisiológicos refletem os níveis ruminais e sanguíneos de produtos do metabolismo, que agem sobre os receptores quimiostáticos e estes, por sua vez, sobre o centro da saciedade. A temperatura ambiente, umidade relativa do ar, radiação solar, pressão atmosférica, vento, nebulosidade, precipitação pluviométrica, peso corporal, idade, nível de produção e estado de saúde são fatores relacionados ao ambiente e ao animal que também estão envolvidos na regulação do consumo (Terada *et al.*, 1957, Forbes, 1983; Thiago e Gill, 1990; Van Soest, 1994; West, 1996; Falco, 1997). Ingvarsen (1994) e Mertens (1994) relataram que mais de 30 parâmetros relacionados ao animal, alimento, manejo, instalações e ambiente podem ser interferir na regulação do consumo.

Diversas teorias tentam explicar os mecanismos fisiológicos que controlam o consumo. Dentre elas as teorias quimiostática, lipostática, termogênese, distensão gástrica, glicostática, entre outras, estando ligadas direta ou indiretamente ao sistema nervoso central (Conrad, 1966; West, 1996). Embora a teoria glicostática não possa ser atribuída a ruminantes, visto que estes animais não apresentam variações da glicemia após refeições, os ácidos graxos voláteis (AGV) derivados da fermentação ruminal podem desempenhar função reguladora, pois a secreção de colecistoquinina (hormônio responsável pela saciedade) pode aumentar na presença destes ácidos (Forbes, 1983; Van Soest, 1994). Segundo Forbes (1995), a energia é provavelmente o principal controlador do consumo.

### **2.2.2. Consumo e digestibilidade**

Na determinação do valor nutritivo de um alimento, o consumo voluntário e a digestibilidade são os parâmetros que

assumem maior importância e estão diretamente relacionados (Forbes, 1983). Este conceito está implícito no índice de valor nutritivo, proposto por Crampton *et al.* (1960), que é o produto do consumo relativo e da digestibilidade. De acordo com Crampton (1957) e Van Soest (1994) o valor nutritivo de um alimento volumoso está em função de sua contribuição para as necessidades energéticas diárias do animal e da quantidade consumida de forma espontânea. Com base nesta proposta, estes autores sugeriram que maior parte do valor nutritivo de uma forragem está relacionado ao seu consumo que à sua digestibilidade. Sendo assim, o consumo é determinante do aporte de nutrientes e conseqüentemente do atendimento das exigências nutricionais dos animais e é considerado a principal variável que influencia o desempenho animal. Este, juntamente com a digestibilidade e a eficiência energética, se constitui no parâmetro mais importante relacionado com a qualidade dos alimentos (Menegatti, 1999).

O consumo e digestibilidade são parâmetros interdependentes, sendo o primeiro relacionado à participação da fração fibrosa na forragem e o segundo à disponibilidade desta para a digestão (Van Soest, 1994). Conrad *et al* (1964) verificaram que em forragens com digestibilidades da matéria seca de até 66,7%, os fatores físicos apresentavam maior importância sobre o controle do consumo, tendo os fatores fisiológicos maior importância em forragens com digestibilidade superior a esta. Church e Pond (1977) afirmaram que a digestibilidade pode ser afetada por diversos fatores, dentre eles o nível de consumo. O mesmo foi verificado por Campling (1966) que verificou correlação positiva entre digestibilidade e consumo voluntário de alimento.

Uma indicação prática do valor nutritivo de uma forragem pode ser dada pela expressão de seu consumo voluntário diário em

porcentagem do seu peso corporal (Crampton, 1957). Já Blaxter (1962) relaciona o consumo voluntário com o peso metabólico do animal e com a digestibilidade aparente da energia das forragens, sendo que o consumo aumenta rapidamente quando a digestibilidade aumenta de 38 para 70%.

O coeficiente de digestibilidade é um dos principais parâmetros para se avaliar um volumoso, pois fornece uma noção do aproveitamento das diversas frações do alimento, indicando a proporção do alimento apta a ser utilizada pelo animal (Minson, 1990). Almeida (1992) afirmou que a qualidade de silagens pode ser considerada satisfatória, quando o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca for superior a 50%.

### **2.2.3. Componentes fibrosos, proteína bruta e aminoácidos sobre o consumo e a digestibilidade**

A relação dos vários constituintes da forragem com o consumo animal depende da sua associação com a estrutura da planta. O consumo voluntário é limitado primariamente pela taxa de digestão da celulose e da hemicelulose, sendo a taxa de digestão retardada por situações que interferem com o número ou atividade da microflora ruminal. Entre estes fatores destacam-se a maturidade avançada com excessiva lignificação, as deficiências que prejudicam o crescimento da flora ruminal e a presença em excesso de agentes bacteriostáticos. Forbes (1995) verificou alta correlação negativa entre o teor de fibra em detergente neutro (FDN) e o consumo de matéria seca para ruminantes. Segundo Oba e Allen (1999), o excesso de FDN na dieta, frequentemente limita o consumo voluntário devido aos efeitos físicos dos alimentos exercidos sobre o rúmen e a diminuição da taxa de passagem. Já a FDA

e a lignina correlacionam-se negativamente com a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS). Assim, a celulose está mais estreitamente correlacionada ao consumo que à digestibilidade, ao passo que a lignina está mais intimamente associada à digestibilidade que ao consumo. De acordo com Saliba (1998), além da digestibilidade da matéria seca, o teor de lignina tem correlação negativa com a fibra bruta, celulose e com as hemiceluloses. A íntima associação física entre a lignina e os polissacarídeos da parede celular e as ligações covalentes são os maiores fatores limitadores do acesso das hidrolases microbianas ao substrato, limitando assim a digestibilidade dos polissacarídeos estruturais. A interferência da lignina sobre as enzimas que degradam a parede celular é considerada o mecanismo primário pelo qual a lignina limita a digestibilidade dos polissacarídeos estruturais (Moore e Hatfield, 1994).

Borges (1999) salientou que o tamanho das partículas da fibra também são importantes na determinação do consumo quanto ao volume do alimento ocupado no rúmen, pois com o aumento do tempo gasto com a ruminação, pode haver competição com o tempo disponível para a alimentação. Este autor sugeriu que a correlação existente entre FDN e consumo voluntário pode ser, em parte, creditada à relação entre FDN e ruminação (e conseqüente redução do tamanho de partículas).

O crescimento das bactérias responsáveis pela digestão da fibra no rúmen é comumente limitado pela deficiência de nitrogênio, e nesta situação a taxa de digestão da fibra é reduzida (Campling e Balch, 1961). Nascimento (1970) encontrou correlação positiva entre o teor de proteína da dieta e a digestibilidade da proteína e da energia. Já Holter e Reid (1959) relacionam a digestibilidade ao consumo de nitrogênio na dieta. Estes autores observaram aumento na concentração de energia digestível da

dieta pela suplementação com farelo de soja, que contribuiu para o aumento na concentração e digestibilidade da PB. Para Van Soest (1994), a medida que as forragens amadurecem a capacidade de ingestão de matéria seca pelo animal diminui, principalmente devido ao aumento na proporção de caules, tecidos lignificados e diminuição nos teores de nitrogênio. Nesta situação, os animais reciclam nitrogênio via saliva. No entanto, a quantidade reciclada tem dependência relativa da quantidade ingerida, e normalmente não é suficiente para atender as necessidades da microbiota ruminal, que se situa entre 6 a 8% de PB. A razão para redução da ingestão se deve ao menor desenvolvimento microbiano e, conseqüentemente, redução na digestão da parede celular (Sniffen *et al.*, 1993; Wilson e Kennedy, 1996).

Quando se deseja obter dados referentes ao coeficiente de digestibilidade dos nutrientes de alimentos ou rações, emprega-se a digestibilidade aparente. Para tal, é necessário medir a quantidade de alimentos ou nutrientes ingeridos e excretados pelo animal. Conhecendo-se a quantidade digerida, efetua-se uma regra de três, sendo seu resultado uma grandeza centesimal, que permite conhecer o coeficiente de digestibilidade do alimento ou nutriente (Silva e Leão, 1979).

Sabe-se também que o teor de grãos na cultura nem sempre está relacionado com o desempenho animal ou a digestibilidade da matéria seca da planta do milho. Um exemplo clássico sobre isso é o trabalho de Hunt *et al.* (1992). Esses autores compararam duas cultivares de milho e mostraram que a silagem de uma cultivar com menor teor de grãos proporcionou melhor desempenho animal do que aquela com maior porcentagem de grãos. Explicações para fatos como este são as variações na qualidade de grãos e fibra

verificadas entre cultivares de milho (Oliveira, 1997).

Alguns trabalhos de avaliação de cultivares de milho para silagem separam as plantas em diferentes frações e identificam os melhores materiais baseado no percentual e na composição de cada fração. Trabalhos deste tipo são onerosos devido ao grande número de análises. Evidências sugerem que avaliar a digestibilidade da planta inteira é uma metodologia mais objetiva quando se quer comparar o valor nutritivo de diferentes cultivares de milho (Graybill *et al.*, 1991; Hunt *et al.*, 1992). Isso faz sentido, uma vez que a digestibilidade da planta inteira é a combinação da digestibilidade pertinente à cada fração. Futuros trabalhos de melhoramento da planta de milho podem ser feitos baseados nessa característica uma vez que esta pode ser um critério de seleção genética. (Deinum e Bakker, 1981; Deinum, 1988; Barrière e Argillier, 1993; Wolf *et al.*, 1993; Argillier *et al.* 1995a; Argillier *et al.*, 1995b; Argillier *et al.*, 1996).

Johnson (s/d) estimou que um acréscimo de duas unidades percentuais na digestibilidade da matéria orgânica da silagem pode representar para uma vaca com 600 kg de peso e produção de 25 kg de leite (4% de gordura) por dia um acréscimo de 596 kg de leite na lactação. Esse mesmo autor estudou a digestibilidade da MS em 9 cultivares de milho durante 2 anos e observou uma diferença de 4,2 pontos percentuais. Oliveira *et al.* (1997) compararam 11 cultivares de milho e verificou diferenças significativas quanto a porcentagem de MS que desapareceu no rúmen após 24 horas de incubação. No referido trabalho, o maior desaparecimento foi de 52% e o menor de 45%.

Barrière *et al.* (1995) compararam as digestibilidades da matéria orgânica da silagem de 8 cultivares de milho obtidos entre 1990 e 1993 e verificaram amplitude

de 6,4 unidades percentuais entre elas. A diferença de produção de leite (4% de gordura) diária média entre a cultivar de maior digestibilidade e a de menor digestibilidade foi de 1,2 kg de leite (4% de gordura).

Com relação a aminoácidos, não há dúvidas de que ruminantes e não-ruminantes devam receber suficiente quantidade de aminoácidos essenciais (AAE) no âmbito tissular, para atender às necessidades de manutenção e produção. No caso de ruminantes, no entanto, a situação é mais complexa. Devido às particularidades do metabolismo intermediário e às transformações que os alimentos sofrem durante a fermentação ruminal, é muito difícil se conhecer os aminoácidos disponíveis para absorção no duodeno, oriundos de uma mistura de proteínas microbiana dietética, sobrepastante e endógena (Rodriguez *et al.*, 1998). Diversos métodos têm sido utilizados para detectar os aminoácidos limitantes para produção de leite. Baseados no perfil de aminoácidos de produtos animais e digesta, concentração de aminoácidos no sangue, captação e secreção de aminoácidos pela glândula mamária, e suplementação pós-ruminal. Vantagens e desvantagens dos diferentes métodos foram revistas (Mephan, 1982; Depeters e Cant, 1992). Geralmente, a Lisina e a Metionina são considerados os aminoácidos mais limitantes para a produção de leite.

### 2.3. Degradabilidade *in situ*

A qualidade da forragem ingerida e sua digestão pela microbiota ruminal estão diretamente relacionadas com o desempenho animal. Por meio da degradabilidade ruminal, pode-se avaliar qual o nível de aproveitamento das forrageiras. A avaliação da digestibilidade de uma forrageira, segundo Sampaio (1988), tem como objetivo satisfazer dois interesses básicos: a necessidade de se

comparar diferentes forrageiras considerando-se que as mais digestíveis apresentarão melhor retorno econômico/produtivo pelos animais que as consumiram; e, quando da formulação de modelos mecânicos que expressem progressiva e verdadeiramente o fenômeno dinâmico da digestão, considerando os fatores circunstâncias inerentes ao alimento oferecido.

Os estudos *in situ* com sacos de náilon possibilitam a determinação da digestibilidade e degradabilidade das forragens, e de seus diversos componentes. Esta técnica tem sido cada vez mais utilizada na avaliação de alimentos para ruminantes devido à facilidade, rapidez de execução, e, principalmente, devido à correlação positiva com resultados obtidos em experimentos *in vivo* (Huntington e Givens, 1995). As determinações de parâmetros cinéticos relacionados com a degradabilidade ruminal dos nutrientes, segundo Nocek (1988) são difíceis de serem determinados *in vivo* e são de fundamental importância na avaliação nutricional de alimentos para ruminantes. Desta forma, o conhecimento da degradação ruminal do alimento e de suas frações é fundamental para se avaliar a quantidade de nutrientes que estará disponível para os microrganismos do rúmen e a quantidade de nutrientes que chega ao intestino, parâmetros importantes na avaliação nutricional de alimentos para ruminantes (National..., 2001).

A técnica consiste em colocar pequena quantidade de alimento em sacos de náilon não degradáveis e suspendê-los no rúmen de animais fistulados. Esta técnica tem sido adotada pelo Agricultural... (1993) como metodologia padrão para caracterizar a degradabilidade ruminal do nitrogênio e pode ainda ser empregada para estudo da dinâmica ruminal de outros nutrientes (Ørskov e McDonald, 1979).



### 2.3.1. Fontes de variação da técnica

Apesar de ser uma técnica amplamente usada pela pesquisa em nutrição de ruminantes, é passível de críticas com relação a muitos fatores que influenciam a digestão e as inúmeras fontes de variação que a técnica *in situ*. De acordo com Huntington e Givens (1995), as principais fontes de variação da técnica são: aspectos físicos da bolsa de incubação (tipo de material, tamanho dos poros e área superficial da bolsa em relação ao peso da amostra); processamento das amostras (tamanho de partícula e secagem da amostra incubada); procedimento de incubação (horário de incubação, posicionamento no rúmen, estratégia de colocação e remoção e lavagem das bolsas após a incubação); efeito da dieta fornecida ao animal experimental; efeito do animal e contaminação microbiana do resíduo de incubação.

Com a intenção de reduzir as variações da técnica, Nocek (1988) fez algumas recomendações de padronização, como: porosidade dos sacos entre 40 a 60  $\mu\text{m}$ ; tamanho de partícula de 2 mm para suplementos protéicos e energéticos, 5 mm para grãos de cereais inteiros, subprodutos fibrosos, feno, silagens; e se o material não for moído, descrever o tamanho da partícula; relação da quantidade de amostra por área de superfície do saco entre 10 a 20  $\text{mg}/\text{cm}^2$ ; correção para a contaminação microbiana, principalmente, para forragens de baixa qualidade; a dieta dos animais deve atender as exigências dos mesmos, documentando-se a composição da ração; utilizar o tipo de animal para o qual as determinações serão usadas; usar pelo menos duas repetições no tempo quando apenas um animal é utilizado; inserir os sacos em um mesmo tempo em relação à alimentação de cada animal e período; mergulhar os sacos em água ou solução tampão antes da incubação ruminal; após a incubação lavar os saquinhos em água

corrente até a água ficar clara. De acordo com o autor, estes cuidados permitem condições próximas às ideais para a atuação nos alimentos de enzimas, temperatura, pH, entre outros fatores, porém não submete os alimentos a condições idênticas às situações encontradas nos animais, tendo em vista que não passam pelos processos de mastigação, ruminação e passagem pelo trato digestivo.

O tempo de incubação também é um fator que afeta os resultados de estudos *in situ*. Ørskov *et al.* (1980) sugerem de 24 a 60 horas de incubação para forrageiras de alta qualidade e de 48 a 72 horas para forrageiras de baixa qualidade, para que o potencial máximo de degradação seja alcançado. De acordo com Sampaio (1994) o estudo de forrageiras deve ser realizado num intervalo de 6 a 96 horas e salienta que a avaliação de três ou quatro tempos de incubação seriam suficientes determinar a equação da degradabilidade.

### 2.3.2. Modelagem da degradabilidade *in situ*

O objetivo da modelagem matemática é descrever, explicar e prever o comportamento deste complexo sistema utilizando um limitado número de equações. O primeiro passo da modelagem é a descrição do sistema em um diagrama de fluxo único, dividindo assim todo o processo em componentes distintos e facilitando a descrição matemática. O segundo passo é então a determinação dos valores prováveis destes parâmetros. Sendo assim, o modelo é sempre uma simplificação da realidade (Sauvant, 1997). De acordo com Mertens (1993), o objetivo de um modelo matemático é representar os conceitos biológicos para o processo descrito. Sampaio (1988), comparando modelos que descreveram a degradação ruminal, observou que o modelo proposto

por Ørskov e McDonald (1979) foi o modelo mais eficiente para descrevê-la.

O modelo de Ørskov e McDonald (1979) proposto para estimativa da degradabilidade ruminal da proteína sugere as seguintes equações:

$$DP = a + b * [1 - \exp(-ct)]$$

Em que,

DP: degradação potencial

a: a percentagem rapidamente degradável (solúvel) do material contido nos sacos de náilon;

b: a fração potencialmente degradável do material incubado nos sacos de náilon;

c: a taxa fracional constante de degradação da fração b;

t: o tempo de incubação no rúmen;

Sampaio (1988) propôs uma equação simplificada da equação (1):

$$p = A - B * e^{-ct} \quad (2)$$

Em que,

A: percentagem máxima de degradação do material contido no saco e corresponde a "a + b", como definidos para a equação (1);

B: não tem valor biológico de interesse

C: taxa fracional constante de degradação da fração b remanescente, após o tempo zero; e

t: tempo de incubação, expresso em horas.

Os parâmetros "A" e "c" são os principais na qualificação de uma forragem (Sampaio,

1988). Um elevado valor de "A" indica um material muito degradável ou finamente moído, enquanto que um maior valor de "c" implica em menor tempo para o desaparecimento da fração imediatamente degradável. Segundo Borges (1997), as forragens mais digestíveis apresentam valores altos de "A", mas necessitam também de altos valores de "c", para que alcancem o potencial máximo de degradação em menor tempo.

McDonald (1981) incluiu na equação o chamado *lag time*, ou tempo de colonização (TC), que seria a fase que precede o início do processo de degradação, na qual ocorre o início da colonização bacteriana, porém sem ocasionar hidrólise do material incubado. A estimativa da degradabilidade potencial e do tempo de colonização de acordo com estes autores são representadas pelas seguintes equações:

$$\text{Lag} = 1/c \ln (b^2/a^2 + b^2 - S) \quad (3)$$

Já o conceito de degradabilidade efetiva é utilizado quando se inclui a taxa de passagem do alimento no cálculo da degradabilidade, Ørskov e McDonald (1979) propuseram a seguinte equação para estimar a degradabilidade efetiva (DE):

$$DE = S + \frac{B1 * c}{c + k} \quad (4)$$

Em que,

S: fração solúvel da amostra no tempo zero;

B1: fração lentamente degradável, correspondente a subtração de A (equação 2) - S;

c: taxa de degradação;

## 2.4. Técnica *in vitro* semi automática de produção de gases

Diversos métodos químicos e biológicos foram desenvolvidos para estimar a digestibilidade e degradabilidade de alimentos, predizendo, assim, o valor nutritivo dos mesmos. Os ensaios *in vivo* envolvendo produção animal e digestibilidade são os métodos mais precisos para determinar o valor nutricional dos alimentos. Entretanto, os mesmos requerem consideráveis usos de animais, alimentos, mão-de-obra, tempo e alto custo financeiro. Como consequência várias técnicas *in vitro* foram desenvolvidas no sentido de viabilizar o estudo nutricional de alimentos.

A técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases (Maurício *et al.*, 1999) é uma metodologia alternativa para avaliação do valor nutritivo de alimentos. Esta técnica possibilita a avaliação de um grande número de substratos, tem baixo custo, alta repetibilidade e oferece a possibilidade de descrição da cinética da fermentação no rúmen, estimando a taxa e a extensão da degradação.

Os materiais são amostrados dos alimentos oferecidos aos animais ao longo do experimento de consumo. Do material amostrado é feito um pool por alimento que é submetido à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 65°C, por 72 horas, e, posteriormente, moído em moinho com peneira de diâmetro de 1 mm. Em seguida, são armazenados em frascos de polietileno com tampas, e, posteriormente, utilizados para incubação nos frascos de fermentação.

## 2.4.1. Procedimento experimental

### 2.4.1.1. Frascos de fermentação

A incubação é feita em frascos de vidro com capacidade para 160 mL que previamente ao experimento são lavados com água destilada e, secos. Posteriormente os frascos são saturados com dióxido de carbono e adicionados com um grama de substrato. São utilizados frascos para cada material testado e o mesmo para frascos contendo apenas o meio de cultura e o inóculo. Para cada frasco, é adicionado manualmente, por meio de uma proveta, 90 mL de meio de cultura, conforme Theodorou *et al.* (1994). Os frascos são vedados com rolhas de borracha (14 mm). Para evitar que qualquer tipo de fermentação ocorra, os frascos são mantidos a 4°C em geladeira pelos momentos antes que antecedem a inoculação. Cinco horas antes da inoculação os frascos são removidos da geladeira para estufa a 39°C até o momento da inoculação. As leituras de pressão são tomadas em maior frequência durante o período inicial de fermentação e reduzidas posteriormente (2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 e 96h).

### 2.4.1.2. Meio de cultura

No dia anterior ao início do experimento, o meio de cultura constituído de uma mistura de solução tampão, macrominerais, microminerais, resazurina e agentes redutores é preparado de acordo com recomendações de Theodorou *et al.* (1994). Este é agitado constantemente e saturado com CO<sub>2</sub> por duas horas até atingir coloração rosada, sendo então adicionados 90mL desta solução aos frascos de fermentação com auxílio de uma proveta. Os frascos são vedados com rolhas de silicone (14mm) e mantidos a 4°C para

evitar que qualquer tipo de fermentação ocorra.

#### 2.4.1.3. Preparação do inóculo e inoculação

Cinco horas antes da inoculação, os frascos com as amostras e o meio de cultura são removidos da geladeira para estufa a 39°C até o momento da inoculação. A inoculação é feita com líquido ruminal obtido de animais alimentados com o mesmo tipo de dieta testado

O líquido ruminal é retirado manualmente com auxílio de uma mangueira plástica e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas. No laboratório, o líquido ruminal é filtrado através de duas camadas de panos de algodão sob injeção contínua de CO<sub>2</sub> e mantido em banho-maria a 39°C. A inoculação é realizada através da injeção de 10 mL do inóculo por frasco através de seringa plástica graduada. Imediatamente após a inoculação, os frascos têm a pressão estabilizada através da inserção de agulhas (25 mm x 7 mm) nas tampas dos frascos. As agulhas são, posteriormente, retiradas, os frascos manualmente agitados e colocados em estufa a 39°C e dá-se, então, o início da contagem dos tempos de fermentação.

#### 2.4.1.4. Produção de gases

A pressão originada pelos gases é medida através de um transdutor de pressão (tipo T443A, Bailey e Mackey, Inglaterra), conectado em sua extremidade a uma agulha (25mm x 7mm). As leituras de pressão são tomadas em maior frequência durante o período inicial de fermentação e reduzidas posteriormente (2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 e 96h). A partir da inserção da agulha na tampa de silicone a

pressão produzida no interior dos frascos é lida no leitor digital e registrada em planilhas para cálculos posteriores do volume de gases pela equação matemática proposta por Mauricio *et al.* (2003) para as condições atmosféricas do Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG:

$$VG \text{ (mL)} = 0,051 P^2 + 4,43 P - 0,004 \text{ (} r^2 = 0,99 \text{)}$$

Em que,

VG = volume de gases produzido;

P = pressão, em psi.

#### 2.4.1.5. Degradabilidade da matéria seca

A degradabilidade da matéria seca (DMS) é obtida pela relação entre a porcentagem do material inicialmente incubado e o resíduo após os períodos de 6, 12, 24, 48 e 96 horas de fermentação. O resíduo da degradação é obtido por meio da filtragem do conteúdo de cada frasco (retirados após os períodos de incubação definidos) em cadinhos de porosidade 1 e posterior secagem em estufa a 100°C, por 12 horas.

### 2.5. Digestibilidade *in vitro* (Tilley e Terry)

Os experimentos de digestibilidade *in vivo* de forragens têm grande importância na estimativa do valor nutritivo destas para os ruminantes. Porém, este tipo de experimento é muito trabalhoso, caro, necessita de grandes quantidades de forragem e não há como distinguir a digestibilidade de cada parte botânica da planta. Por isto, os métodos de digestibilidade *in vitro* que utilizem

preparações de microrganismos e/ou enzimas que reproduzam as condições do trato digestivo do ruminante têm se tornado cada vez mais populares (Tilley e Terry, 1963).

Dos vários métodos *in vitro* existentes, o método de duplo estágio proposto por Tilley e Terry (1963) é o mais utilizado na avaliação da digestibilidade de forragens. Este método, além da simplicidade de execução, apresenta uma correlação muito alta com os experimentos de digestibilidade *in vivo*.

Os valores de digestibilidade *in vitro* das forragens podem variar com a espécie da forragem (Tilley e Terry, 1963), partes da mesma planta (Kuehn *et al.*, 1999), cruzamentos (Lundvall *et al.*, 1994), estágio de maturidade (Snyman e Joubert, 1996) e condições da ensilagem (van Soest, 1994).

Durante a ensilagem, o fator mais importante que afeta negativamente a digestibilidade da forragem é a penetração de oxigênio no silo, pois este estimula a respiração da planta e o crescimento de microrganismos aeróbicos espóliativos (fungos). Isto leva ao consumo dos carboidratos mais rapidamente disponíveis gerando aumento da temperatura dentro do silo, promovendo a formação de reações de Maillard (van Soest, 1994). Porém, quando as condições de ensilagem são adequadas, os valores de digestibilidade *in vitro* podem não variar durante o processo de fermentação. Maia (2001) não encontrou mudanças nos valores de digestibilidade *in vitro* da silagem de milho ao longo de 56 dias de fermentação. Borges (1995) e Rocha Júnior (1999) também não encontraram variações nos valores de digestibilidade *in vitro* nas silagens de sorgo.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Considerações gerais

O experimento de campo foi conduzido na unidade experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite, localizada em Coronel Pacheco-MG, entre julho e novembro de 2003.

#### 3.2. Descrição dos materiais

##### 3.2.1. Descrição das silagens

Três híbridos de milho (AG1051, 97HT131 e 97HT129), sendo os dois últimos classificados como de “Qualidade Protéica Modificada” (QPM), foram plantados para a produção das silagens experimentais. Os tratamentos culturais foram adubação de plantio, de cobertura e irrigação por aspersão. A adubação de plantio foi feita com o adubo N-P-K 04-14-08, na proporção de 450 kg/ha. A adubação de cobertura, pós-germinação, foi feita com uréia na proporção de 200 kg/ha.

O critério adotado para o estabelecimento da colheita da forragem para a ensilagem foi quando os grãos da parte central de uma amostragem de espigas estavam com  $\frac{3}{4}$  de linha de leite, quando a forragem encontrasse aproximadamente com 30-35% de matéria seca. A silagem foi armazenada em silo do tipo “trincheira”.

##### 3.2.2. Descrição do concentrado

O concentrado fornecido aos animais foi elaborado por empresa comercial que atende à Embrapa Gado de Leite, composto

basicamente por milho moído, farelo de soja, farelo de algodão, mistura mineral-vitamínica, formulado para conter 22% de PB e 70% de NDT.

### 3.3. Descrição dos animais

Para a prova de desempenho foram formados três grupos de sete vacas mestiças, de 1/2 sangue Holandês-Zebú até 7/8 Holandês-Zebú, com peso médio de 480 kg, entre 50 a 70 dias de lactação e produções de leite homogêneas, em delineamento casualizado balanceado. Foram distribuídas pela ordem de parição, grau de sangue, produção de leite e data de parição (variando e de primeira à quarta ordem de parição).

Durante os quinze primeiros dias (pré-experimentais) as vacas receberam dieta completa, e foram adaptadas ao *Calan-Gates*®. O período experimental foi de 94 dias, adicionados de 15 dias para adaptação.

### 3.4. Análises bromatológicas

As análises laboratoriais foram conduzidas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG.

No suco das silagens, extraído com auxílio de uma prensa hidráulica, foram analisados os valores de pH. Nos materiais pré-secos e moídos, foram determinados os teores de matéria seca em estufa a 105°C (Association..., 1980), de proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldhal (Association..., 1980), de extrato etéreo, dos componentes da parede celular pelo método de detergentes (van Soest *et al.*, 1991), matéria mineral, teores de cálcio e de fósforo e os valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (Tilley e Terry, 1963).

### 3.5. Degradabilidade *in situ*

Foram utilizadas três vacas fistuladas no rúmen para avaliar os parâmetros da fermentação ruminal e degradabilidade *in situ*. A técnica utilizada foi aquela descrita por Ørskov e McDonald (1979). Para as comparações dos parâmetros ruminais, o delineamento utilizado foi o de quadrado latino balanceado (dois quadrados 3 X 3), e para comparações entre os tratamentos foi utilizado o teste SNK ( $P < 0,05$ ). O pH e os teores de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal foram mensurados nos horários de zero, uma, três, seis, nove e doze horas após a alimentação. O teor de nitrogênio foi dosado no líquido ruminal preservado com HCl. A digestibilidade da matéria seca foi estimada pela técnica de análise por espectrofotometria do infravermelho próximo (NIRS), conforme curva de calibração do Laboratório de Nutrição Animal da UFMG. A taxa de passagem da fase líquida foi estimada utilizando-se o marcador Co-EDTA.

### 3.6. Avaliação do consumo

O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Coronel Pacheco, pertencente à Embrapa Gado de Leite, e as análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Gado de Leite e da Escola de Veterinária da UFMG.

Os tratamentos avaliados foram as silagens de duas cultivares de milho com qualidade protéica modificada – QPM (97HT131 e 97HT129) e uma testemunha (AG1051).

As dietas experimentais foram completas e constituídas por aproximadamente 40% de concentrado (22% de PB e 72% de NDT) e 60% de volumoso (silagem de milho). A única diferença entre as dietas foi a silagem.

Os animais foram alimentados uma vez por dia e ordenhados duas vezes por dia. As sobras de alimento foram retiradas e pesadas antes do fornecimento da dieta pela manhã. As operações com os alimentos foram feitas com o carro de alimentação (*Americam Calan Co.*).

No início do período experimental e a cada 28 dias, as vacas foram pesadas por dois dias consecutivos após a ordenha da manhã e antes de receber o alimento. A média obtida nos dois dias foi o peso da vaca, considerado para cálculo de requisitos nutricionais de manutenção, segundo o Nutrient... (1988).

Uma vez por semana foi feita amostragem dos ingredientes das dietas para determinação da MS e correção da dieta. A cada 14 dias uma amostra 500g de cada silagem foi realizada para formarem uma amostra composta, na qual uma sub-amostra foi utilizada para a determinação de sua composição.

Para determinação da digestibilidade das dietas, as sobras de cada animal, foram pesadas e amostradas por um período de sete dias.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso. O consumo, a digestibilidade, a produção e a composição de leite foram comparadas pelo teste SNK ( $P < 0,05$ ).

### **3.7. Produção de leite e dos componentes**

Durante os 14 primeiros dias (pré-experimentais), as vacas receberam dieta completa e foram adaptadas ao Calan Gates®. O período experimental foi de 30 dias, adicionados de 14 dias para adaptação.

As dietas experimentais foram constituídas de, aproximadamente, 40% de concentrado (22% de PB e 72% de FDN) e 60% de volumoso (silagem de milho). A única diferença entre as dietas foi a silagem.

Os animais foram alimentados uma vez por dia em dieta completa e ordenhados duas vezes por dia, nos horários de seis e quatorze horas. As operações com os alimentos foram feitas com o carro de alimentação (*Americam Calan Co.*).

A cada 14 dias, uma amostra de leite de cada vaca, composta pelo leite da manhã e da tarde, foi analisada quanto à porcentagem de PB e gordura.

No início do período experimental e a cada 28 dias, as vacas foram pesadas por dois dias consecutivos após a ordenha da manhã e antes de receber o alimento. A média obtida nos dois dias foi considerada para cálculo de requisitos de manutenção.

A produção de leite foi aferida semanalmente, em quatro ordenhas consecutivas. Uma vez por semana foi feita amostragem dos ingredientes das dietas para determinação da MS e correção da dieta. A cada 14 dias uma amostra 500g de cada silagem foi realizada, para formarem uma amostra composta na qual uma sub-amostra foi utilizada para a determinação de análise bromatológica.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso. Para avaliação do consumo, digestibilidade, produção de leite, produção de leite corrigido para 3,5% de gordura, teores de gordura e de PB no leite foram comparados pelo teste SNK, ( $P < 0,05$ ).

Tabela 3. Composição da matéria seca e consumo voluntário das silagens de milho

Composição	A (AG1051)	B (97HT131-QPM)	C (97HT129-QPM)
MS, %	28,09	30,04	26,72
PB, %	8,65	8,94	8,64
FDN, %	57,63	54,32	56,02
FDA, %	24,96	27,65	29,29
Lignina, %	6,29	6,18	7,85
MM, %	5,80	5,74	6,53
Ca, %	0,55	0,52	0,60
P, %	0,27	0,28	0,27
EE, %	2,36	3,53	3,84
Consumo da dieta, na MS, Kg	14,55	15,23	16,03

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Qualidade das silagens

Os dados obtidos da matéria seca, composição nutricional e consumo podem ser observados na Tabela 3.

Os teores de MS variaram de 26,72 a 30,04%, sendo inferiores aos observados por Freitas (2002) e Neiva *et al.* (1988), que obtiveram silagens de milho consideradas de boa qualidade, com 35 e com 45% de MS. O teor de MS encontrado, entretanto, é superior ao mínimo apontado por Castle e Watson (1973) para evitar produção significativa de efluentes sendo o ideal entre 30 e 35% de MS. Quanto aos teores de PB, que variaram de 7,0 a 8,2%, as silagens podem ser consideradas de boa qualidade. Os dados mostram também que não houve diferenças significativas entre o consumo dos volumosos bem como de suas composições, em acordo com Ribas (2006). O fato do consumo se manter semelhante pode ser justificado pela semelhança entre o FDN e o FDA dos três cultivares. A homogeneidade da mistura da dieta proporcionada pelo misturador automático

pode ter contribuído para o consumo das dietas.

O maior teor de extrato etéreo na massa ensilada dos QPM's confirma dados de Drackley (1997). O teor de extrato etéreo oriundo de forragens, no entanto, não deve ser interpretado como maior aporte energético uma vez que este pode ser oriundo de ceras que são geralmente indigestíveis (Van Soest, 1994). A estação experimental de Coronel Pacheco tem clima ameno durante o inverno com temperatura em torno de 22 graus centígrados, sendo que no período do experimento de consumo foi comum temperaturas na casa dos 15 graus centígrados. Estas temperaturas certamente contribuíram para amenizar perdas por fermentação na dieta durante sua exposição. Também os cochos não recebiam raios solares uma vez que eram protegidos. O percentual de concentrado utilizado (40%), certamente contribuiu para a aceitação da dieta pelos animais, ainda que este tenha sido optado por atender a necessidade nutricional. O bem estar animal verificado no "free stall", onde os animais estiveram, era pleno, não havendo manifestação de estresse calórico. É cabido indagar se em condições de maior percentual de volumoso, ainda que em déficit para suprir as necessidades nutricionais, os resultados se manteriam.



Tabela 4. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), nutrientes digestíveis totais (NDT) e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica das silagens

Características	A	B	C
	(AG1051)	(97HT131-QPM)	(97HT129-QPM)
DIVMS	63,51	63,43	63,82
NDT	61,14	63,17	62,25
DIVMO	59,81	59,74	59,67

No entanto, poderia haver diferenças de produção e poderia se indagar se este não teria sido provocado pela dieta desequilibrada. Assim foi adotada a opção da dieta equilibrada. Foram condições, as descritas, que favoreceram o consumo e a manifestação do potencial produtivo dos animais.

O consumo foi de 14,55 , 15,23 e 16,06 kg para as silagens A, B e C, respectivamente. A silagem de milho QPM não mostrou superioridade em relação à composição nutricional e ao consumo quando comparado à testemunha.

#### 4.2 Digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens

Os teores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca são apresentados na Tabela 4. Não foram verificadas diferenças entre as silagens de milho. Os teores de DIVMS foram superiores aos relatados por Maia (2001), que variaram de 56,9 a 58,8% e

foram inferiores aos obtidos por Kuehn *et al.* (1999), que variaram de 66,8 a 69,2, para um híbrido de milho granífero e outro folhoso, respectivamente.

Os teores de NDT e de DIVMO, como obtidos a partir dos dados de digestibilidade *in vitro* da matéria seca, também não mostraram diferenças entre as diferentes silagens de milho. Dessa forma, pode-se inferir que a qualidade protéica modificada dos grãos das silagens 97HT131 e 97HT129 não influenciou as digestibilidades *in vitro* da matéria seca e orgânica, bem como o valor nutritivo das silagens.

#### 4.3. Degradabilidade *in situ* da matéria seca das silagens

Como pode ser visualizado na Tabela 5, as silagens avaliadas não diferiram ( $p>0,05$ ) quanto aos teores de degradabilidade *in situ* da MS, nos respectivos horários, até o período de 96 horas de incubação tendo, as

Tabela 5- Desaparecimento médio (%) da MS das silagens de três híbridos de milho de em função dos tempos de incubação no rúmen de vacas leiteiras recebendo dietas com três tipos de silagens

Horários	Silagens		
	A	B	C
	(AG1051)	(97HT131-QPM)	(97HT129-QPM)
06	35,85	26,75	27,91
24	52,25	43,65	56,94
96	66,75	60,4	68,50

mesmas, as degradabilidades crescentes segundo os tempos de permanência incubadas.

Carneiro *et al.* (2002) encontraram valores de 50,7, 65,5, 77,0 e 84,3% de degradabilidade potencial para silagem de milho, semelhantes às encontradas no presente trabalho, 35,3, 42,8, 63,0, 75,4, 84,6% para silagem de sorgo e 30,3, 43,9, 62,3, 65,8, 66,4% para silagem de girassol, nos tempos de 6, 24, 48 e 96 horas de incubação, respectivamente.

As taxas de degradação média são mostradas na Tabela 6. Segundo Borges (1997) as forragens mais digestíveis apresentam valores altos para a fração A (prontamente degradável), mas necessitam também de altos valores de “c” (taxa de degradação), para que alcancem o potencial máximo de degradação em menor tempo. Para Sampaio (1988), os parâmetros “A e c” são os principais para qualificar determinada forragem. Elevado valor de A indica material muito degradável, enquanto maior valor de “c” implica em menor tempo para o desaparecimento da fração imediatamente degradável. Para o autor, forragens de boa qualidade devem apresentar taxas de degradação superiores a 2%/h. Não houve diferença significativa entre as frações A das silagens dos híbridos,

resultado semelhante ao encontrado por Lopes *et al* (2002) de 72,8, 75,2, 77,7 e 74,6 para 04 cultivares de milho, sendo o primeiro destes QPM. Estão também em conformidade com os parâmetros de Sampaio (1988) para serem caracterizadas como forragens de boa qualidade. O parâmetro “c” é obtido por meio de modelagem e seu valor, ao ser colocado no modelo explica o fato de amostras com maior valor de A não terem que, necessariamente, apresentar maior taxa de degradabilidade efetiva ao serem comparadas com outras amostras com taxas de degradação diferentes.

#### 4.4. Parâmetros ruminais

Neste tópico, a importância de saber o balanço de nitrogênio e o pH ruminal, é devido à necessidade de se conhecer o ambiente onde as comparações estão sendo feitas. É importante que não haja diferença no ambiente ruminal para que não haja prejuízo no crescimento da flora bacteriana, responsável pela degradação do alimento no rúmen. Mudanças nestes parâmetros podem ser causadas devido à composição do alimento testado e, assim, inibir ou otimizar determinado resultado quanto à sua degradação.

Tabela 6. Parâmetros de degradação ruminal da matéria seca em vacas alimentadas com três as silagens

Parâmetros	Silagens		
	A (AG1051)	B (97HT131-QPM)	C (97HT129-QPM)
A	72,6	61,1	70,5
B	38,9	45,4	51,9
C	0,018	0,046	0,034
S (solubilidade), %	25,0	21,1	19,2
DE (degrad. Efetiva)	39,4	48,8	46,7

A = fração potencialmente degradável; B = fração potencialmente degradável sob ação da microbiota, se não houvesse *lag-time*; c = taxa constante de degradação da fração potencialmente degradável por ação da microbiota; e S = fração solúvel mais partículas com tamanho reduzido que atravessam os poros do náilon (SAMPAIO, 1988).

Tabela 7. Valores de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal (N-NH<sub>3</sub> em mg %)

Tempo de coleta	N-NH <sub>3</sub> (mg/100mL)		
	A (AG1051)	B (97HT131-QPM)	C (97HT129-QPM)
0	15,18	10,97	14,12
1	30,12	24,28	30,47
3	27,67	22,30	25,44
6	23,58	20,66	25,10
9	26,73	19,38	22,53
12	30,93	26,03	28,48
Médias	23,54	23,11	24,00
Desvio Padrão	2,83	2,73	3,07
Coef. Variação	0,1101	0,1327	0,1260

#### 4.4.1. Nitrogênio Amoniacal

Segundo Van Soest (1994), para otimizar as condições ruminais, é necessário que haja sinergismo entre degradação da proteína, nível de amônia e fermentação de carboidratos, no rúmen, para a máxima eficiência de síntese de proteína microbiana. No entanto quando a velocidade de produção de amônia excede sua utilização, há aumento de excreção de nitrogênio (N) e do custo energético de síntese de uréia, resultando em redução da digestibilidade da proteína. Desta forma, o balanço de nitrogênio pode ser indicativo do metabolismo protéico animal, importante na avaliação nutricional de alimentos, pois evidencia se há perda ou não de proteína pelo organismo (Andrighetto *et al.*, 1990).

Os teores médios de nitrogênio amoniacal, mostrados na Tabela 7, oscilaram de 10,97 mg % no momento da refeição até 30,93 mg%, 12 horas após a refeição. O valor médio encontrado foi de 23,55 mg%, que possibilita adequada fermentação microbiana no rúmen. Segundo Van Soest (1994) e Hobson e Steward (1997), a concentração mínima para garantir o

processo da fermentação ruminal de forma adequada situa-se por volta de 10 mg%, enquanto Satter e Slyter (1974) concluíram que 5 mg amônia por 100 mL de fluido ruminal são suficientes para permitir o máximo crescimento microbiano.

#### 4.4.2. Valores de pH

O valor médio de pH, demonstrado na Tabela 8, foi de 6,51, variando de 6,52 no momento do fornecimento até 6,27 após 12 horas do fornecimento da dieta. Nestes valores é possível bom desenvolvimento microbiano. Segundo Hobson e Steward (1997), valores de pH entre seis e sete permitem a presença de todos os componentes da biomassa microbiana no rúmen (bactérias, principalmente as celulolíticas, protozoários e fungos) e ótima ação das enzimas microbianas (Lindberg, 1985).

Considerando-se os valores de pH e nitrogênio amoniacal pode-se dizer que o ambiente ruminal não foi limitante para a avaliação *in situ* das silagens. Nestes quesitos, há de se salientar que o método de dieta completa, homogeneizado pelo

Tabela 8. Valores de pH do líquido ruminal de vacas leiteiras submetidas à dieta contendo 3 tipos de silagens de milho

Tempo de coleta	Silagens		
	A (AG1051)	B (97HT131-QPM)	C (97HT129-QPM)
0	6,54	6,50	6,52
1	6,55	6,59	6,56
3	6,45	6,49	6,46
6	6,46	6,52	6,45
9	6,34	6,47	6,30
12	6,27	6,31	6,30
Médias	6,44	6,48	6,43
Desvio Padrão	0,11	0,09	0,10
Coef. Variação	0,0173	0,0145	0,0170

misturador automático, permite a entrada da dieta no rúmen de forma muito equilibrada em cada bocado, pois a seleção pelo animal é dificultada, embora presente, confirmada pelo menor valor nutricional das sobras e pela presença de partículas de maior tamanho nestas. O maior volume ingerido, no entanto, foi de material de qualidade superior, capaz de promover adequada fermentação ruminal, evidenciada pelos valores de pH e nitrogênio amoniacal medidos.

#### 4.4.3. Produção de leite e dos componentes

Conforme observado na Tabela 9, não houve diferença significativa entre a produção de leite e de seus componentes nos três tratamentos.

Como já descrito neste trabalho, a principal diferença dos genótipos de milho de perfil modificado de aminoácidos sobre os genótipos de milho normais é a maior concentração das proteínas albuminas e

globulinas, que estão presentes no germe dos grãos. Como estas proteínas são solúveis em água e em soluções salinas, respectivamente (Altschul, 1961), espera-se que estas proteínas sofram intenso processo de proteólise e deaminação durante a ensilagem. A intensa degradação que proteínas como as albuminas e globulinas do milho sofrem durante a fermentação ruminal (Mustafa, 2002; Thomas *et al.*, 2000; Messman *et al.*, 1994; Davies *et al.*, 1998) pode ter anulado o efeito positivo do perfil modificado no teor de aminoácidos, podendo não contribuir para a melhoria do perfil de aminoácidos absorvidos no intestino delgado pelos ruminantes. Conforme descrito em material e métodos, os blocos foram balanceados de forma a distribuir os animais homogeneamente e estes, oriundos do rebanho de Coronel Pacheco, que sempre utiliza sêmen de touros superiores, são animais de expressão produtiva elevada equiparando-se em potencial genético, haja vista o reduzido valor para o coeficiente de variação que, para a característica estudada, admite variações de até 40% como normais. No entanto, são mestiços e adaptados às condições locais sendo os requisitos

Tabela 9. Produção diária média, média percentual de gordura, média percentual de proteína, produção média de lactose, extrato seco total(média diária) e escore corporal médio de vacas alimentadas com três silagens de milho.

<b>Característica</b>	<b>A (AG1051)</b>	<b>B (97HP131-QPM)</b>	<b>C (97HP129-QPM)</b>
Produção, kg de leite	19,08	18,06	19,62
Desvio Padrão	0,15	0,85	0,69
Coef. Variação	0,0078	0,0470	0,0351
Gordura, %	3,66	3,9	3,88
Proteína, %	2,81	2,86	2,93
Lactose kg	0,95	0,89	0,97
Extrato Seco	12,46	12,75	12,85
Escore Corporal	3,19	3,09	3,19

nutricionais calculados segundo o Nutrient... (1989, 2001) para animais puros uma vez que não existem, até o momento, valores de referência para cálculo de requisitos de animais mestiços. É esperado que, por ganhos de adaptabilidade, as dietas ofertadas tenham suprido com facilidade as necessidades dos mestiços e tenham sido suficientes, portanto, para a manifestação do potencial produtivo destes. Como o balanceamento dos blocos foi rigoroso, a produção de leite não foi diferente significativamente e, é cabido admitir, que ainda que houvesse pequenas diferenças entre as dietas é possível que estas fossem mascaradas pela capacidade de adaptação dos mestiços, principalmente em provas de curta duração como a que foi realizada.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Não houve diferença significativa entre os parâmetros nutritivos e valores nutricionais das silagens dos três híbridos de milho.

Não houve diferença significativa entre a degradabilidade da matéria seca entre as silagens testadas.

O ambiente ruminal não foi limitante para avaliação *in situ* das silagens considerando-se os valores de pH e nitrogênio amoniacal.

As silagens de milho QPM não mostraram superioridade em relação ao consumo, produção de leite e dos componentes quando comparadas à testemunha.

## 6. BIBLIOGRAFIA CITADA

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. *Energy and protein requirements of ruminants*. Wallingford: CAB International, 1993. 159p.

ALMEIDA, M. F. *Composição química, digestibilidade e consumo voluntário das silagens de sorgo (Sorghum vulgare, Pers.) em dois momentos de corte, girassol (Helianthus annuus, L.) e milho (Zea mays, L.) para ruminantes*. 1992. 100p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ALTSCHUL, A.M. Seed proteins. In: Schultz, A.M. *Symposium on foods: Proteins and their reaction*, 1961.

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.

ANTUNES, R.C. *Padrão de Fermentação das Silagens de Seis Genótipos de Milho (Zea mays L.)*. 2001. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ARGILLIER, O.; BARRIÈRE, Y.; LILA, M. *et al.* Genotypic variation in phenolic components of cell-walls in relation to the digestibility of maize stalks. *Agronomie*, v.16, n.1, p.123-130, 1996.

ARGILLIER, O.; BARRIÈRE, Y.; HÉBERT, Y. Genetic variation and selection criterion for digestibility traits of forage maize. *Euphytica*, v.82, n.1, p.175-184, 1995a.

ARGILLIER, O.; HÉBERT, Y.; BARRIÈRE, Y. Relationships between biomass yield, grain production, lodging susceptibility and feeding value in silage

maize. *Maydica*, v.40, n.1, p.125-136, 1995b.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMICAL (AOAC). Washington. *Official methods of analysis of the Association of analytical Chemists*. 11 ed. Washington, D.C. 1970. 1015p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMICAL (AOAC). Washington. *Official methods of analysis of the Association of analytical Chemists*. 12 ed. Washington, D.C. 1975. 1094 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. *Official methods of analysis*. 16.ed. Washington: AOAC, 1995. 2000p.

AZEVEDO, R.A.; DAMERVAL, C.; LANDRY, J. *et al.* Regulation of maize lysine metabolism and endosperm protein synthesis by opaque and floury mutations. *Eur. J. Biochem.*, v. 270, p. 4898-4908, 2003.

AZEVEDO, R.A.; LEA, P.J.; DAMERVAL, C. *et al.* Regulation of lysine metabolism and endosperm protein synthesis by the opaque-5 and opaque-7 mutations. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 4865-4871, 2004.

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. *An. Feed Sci. Techn.*, v. 86, p. 83-94, 2000.

BARRIÈRE, Y.; ARGILLIER, O. Brown-midrib genes of maize, a review. *Agronomie*, v.13, p.865-876, 1993.

BARRIÈRE, Y.; EMILE, J.C.; TRAINÉAU, R. *et al.* Genetic variation in the feeding efficiency of maize genotypes evaluated from experiments with dairy

cows. *Plant Breed.*, v.114, n.1, p.144-148, 1995.

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

BORGES, A. L. C. C. Controle da ingestão de alimentos. *Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG*, n. 27, p. 67-79, 1999.

BORGES, A.L.C.C. *Qualidade de silagens de híbridos de sorgo de porte alto, com diferentes teores de tanino e de umidade no colmo, e seus padrões de fermentação*. 1995. 104p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BORGES, I. *Influência da dieta na degradabilidade in situ do caroço de algodão integral e do bagaço de cana de açúcar auto-hidrolisada, na dinâmica da fermentação ruminal e na cinética sanguínea de ovinos*. 1997. 129p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CAMPLING, R. C. The voluntary intake of conserved grass by cattle. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PASTAGENS, 9, 1966, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Abrico, p.903-905.

CAMPLING, R. C.; BALCH, C. C. Factors affecting the voluntary intake of food by cows. 2. The relationships between the voluntary intake of roughages, the amount of digesta in the reticulo-rumen and the rate of disappearance of digesta from the alimentary tract. *Br. J. Nutr.*, v.15, n.1-2, p.531-540, 1961.

CARNEIRO, J.C.C.; OLIVEIRA E SILVA, J.O.; VIANA, A.C. *et al.* Avaliação da degradabilidade “in situ” da matéria seca e da fibra em detergente neutro de silagens de milho (“*Zea mays*”), sorgo (“*Sorghum bicolor*”) e girassol (“*Helianthus annuus*”)

In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. *Anais...* Recife: SBZ, 2002. CD-ROM

CASTLE, M.E., WATSON, J.N. The relationship between the DM content of herbage for silage making and effluent production. *J. Br. Grassland Soc.* v. 28, p. 135-138, 1973.

CHANDRASHEKAR, A.; MAZHAR, H. The biochemical basis and implications of grain strength in sorghum and maize. *J. Cereal Sci.* v. 30, p. 193-207, 1999.

CHURCH, D. C.; POND, W. G. *Bases científicas para la nutrición y alimentación de los animales domésticos*. Zaragoza: Acríbia, 1977. 462p.

CONRAD, H. R. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminant: physiological and physical factors limiting feed intake. *J. Anim. Sci.*, v.25, n.1, p.227-235, 1966.

CONRAD, H. R.; PRATT, A. D.; HIBBS, J. D.W. Regulation of feed intake in dairy cows. I. Change in importance of physiological factors with increasing in digestibility. *J. Dairy Sci.*, v.48, n.1, p.47-54, 1964.

CRAMPTON, E. W. Interrelations between digestible nutrient and energy content, voluntary dry matter intake and the overall feeding value of forages. *J. Anim. Sci.*, v.16, n.3, p.546-552, 1957.

CRAMPTON, E. W.; DONNEFER, L. L.; LLOYD, L. E. A nutritive value index for forages. *J. Anim. Sci.*, v. 19, n.2, p.538-544, 1960.

CROW, J.F.; DOVE, W. Oliver Nelson and quality protein maize. *Genetics*, v. 160, p. 819-821, 2002.

- DAVIES, D.R.; MERRY, R.J.; WILLIAMS, A.P. *et al.* Proteolysis during ensilage of forages varying in soluble sugar content. *J. Dairy Sci.*, v. 81, n. 2, p. 444-453, 1998.
- DEINUM, B. Genetic and environmental variation in quality of forage maize in Europe. *Netherlands J. Agric. Sci.*, v.36, n.4, p.400-403, 1988.
- DEINUM, B.; BAKKER, J.J. Genetic differences in digestibility of forage maize hybrids. *Netherlands J. Agric. Sci.*, Wageningen, v.29, n.2, p.93-98, 1981.
- DEPETERS, E. J.; J. P. CANT. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A review. *J. Dairy Sci.*, v.75, n. 8, p. 2043- 2070, 1992.
- DOANE, P.H.; PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. *et al.* Soluble carbohydrates in silage. In: 1996 CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 1996, Rochester-NY. *Proceedings...* Rochester-NY. 1996, p. 115-120.
- DRACKLEY, J.K. Update on high oil corn for dairy cattle. In: 4-APPLIED NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE AND ZINPRO TECHNICAL SYMPOSIUM, 1997. Wisconsin. *Proceedings...* Wisconsin, 1997, p. 108-117.
- FAIRBAIRN, R.L.; ALLI, I.; PHILLIP, L.E. Proteolysis and amino acid degradation during ensilage of untreated or formic acid-treated lucerne and maize. *Grass For. Sci.* v. 47, p. 382-390, 1992.
- FALCO, J. E. *Bioclimatologia animal*. Lavras: Gráfica Universitária, 1997. 57p.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. Statistical Database. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 25 de Junho de 2006.
- FISHER, D.S.; BURNS, J.C. Quality analysis of summer-annual forages. II. Effects of forage carbohydrate constituents on silage fermentation. *Agron. J.* v. 79, p. 242-248, 1987.
- FORBES, J. M. Physiological regulation of food intake. In: FORBES, J. M. *Nutritional physiology of farm animals*. New York: Longman Group Limited, 1983. p.177-202.
- FORBES, J.M. *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. Wallingford: CAB International, 1995. 532p.
- FREITAS, A.R. *Consumo e digestibilidade aparente das silagens de cinco genótipos de milho (Zea mays. L)*. 2002. 50p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- GARCIA, A.A.F.; SOUZA JR., C.L. Phenotypic recurrent selection to improve protein quality in non-opaque maize populations. *Scientia Agricola*, v. 59, n. 4, p. 743-748, 2002.
- GEETHA, K.B.; LENDING, C.R.; LOPES, M.A. *et al.* Opaque-2 modifiers increase  $\gamma$ -zein synthesis and alter its spatial distribution in maize endosperm. *Plant Cell*, v. 3, p. 1207-1219, 1991.
- GIBBON, B.C.; LARKINS, B.A. Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *Trends in Genetics*, v. 21, n. 4, p. 227-233, 2005.
- GORDON, C.H. Storage losses in silage as affected by moisture content and structure. *J. Dairy Sci.* v. 50, n.3, p. 397-403, 1967.
- GRAYBILL, J.S.; COX, W.J.; OTIS, D.J. Yield and quality of forage maize as influenced by hybrid, planting date, and



- plant density. *Agron. J.*, Madison, v.83, n.3, p.559-564, 1991.
- GUIMARÃES, P.E.O.; PACHECO, C.A.; PAES, M.C.D. *et al.* BR 473: Variedade de milho amarela com qualidade protéica melhorada (QPM). *Comunicado Técnico*, 105, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, 2004.
- HARRISON, J.H., BLAUWIEKEL, R., STOKES, M.R. Fermentation and utilization of grass silage. *J. Dairy Sci.* v. 77, n. 10, p. 3209-3235, 1994.
- HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. *The Rumen Microbial Ecosystem*. London: Blackie Academic and Professional. 1997. 340p.
- HOLTER, J. A.; REID, J. J. Relationship between the concentrations of crude protein and apparently digestible protein in forages. *J. Anim. Sci.*, v.18, p.1339, 1959.
- HUANG, S.; ADAMS, W.R.; ZHOU, Q. *et al.* Improving nutritional quality of maize proteins by expressing sense and antisense zein genes. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 1958-1964, 2004.
- HUNT, C.W.; KEZAR, W.; HINMAM, D.D. *et al.* Effects of hybrid and ensiling with and without a microbial inoculant on the nutritional characteristics of whole-plant corn. *J. Anim. Sci.*, v.71, n.1, p.38-43, 1992.
- HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The *in situ* technique for studying the Rumen degradation of feeds: reviews of the procedure. *Nutr. Abstr. Reviews (Series B)* v.65, n.2, p.63-93, 1995.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Confronto das Safras de 2005 e 2006 – Brasil. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 25 de julho de 2006.
- INGVARTSEN, K.L. Models of voluntary food intake in cattle. *Livest. Prod. Sci.*, v.39, n.1, p.19-38, 1994.
- JOHNSON JR., J.C. *Current concepts useful in selecting corn varieties for making silage*. Tifton:University of Georgia/Coastal Plain Exp. Station/Animal Science Department, [19--].
- JONES, B.A.; HATFIELD, R.D.; MUCK, R. Characterization of proteolysis in alfalfa and red clover. *Crop Sci.* v. 35, p. 537-541, 1995.
- KAUTZ, W.P. Evaluating silage quality. In: 4-APPLIED NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE AND ZINPRO TECHNICAL SYMPOSIUM, 1997. Wisconsin. *Proceedings...* Wisconsin, 1997, p. 35-48.
- KUEHN, C.S.; LINN, J.G.; JOHNSON, D.G. *et al.* Effect of feeding silages from corn hybrids selected for leafiness or grain to lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v. 82, n. 12, p. 2746-2755, 1999.
- LINDBERG, J.E. Estimation of Rumen degradability of feed proteins with the *in sacco* technique and various *in vitro* methods: a review. *Acta Agric. Scandinavica*. suppl. v.25, p.65-97, 1985.
- LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C.; NOVAES L.P. *et al.* Avaliação da Degradabilidade Ruminal *in situ* da Matéria Seca de Silagens de Milho (*Zea mays*, L.) com Diferentes Graus de Vitreosidade e com Perfil de Aminoácidos Modificado. In: XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2004, Cuiabá - MT. *Anais...* Sete Lagoas - MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2004, v. 25.
- LUNDVALL, J.P.; BUXTON, D.R.; HALLAUER, A.R. *et al.* Forage quality variation among maize inbreds: *in vitro*

digestibility and cell components. *Crop. Sci.* v. 34, p. 1672-1678, 1994.

MAIA, F.S. *Qualidade e padrão de fermentação das silagens de seis cultivares de milho (BR 106, BR 205, HD 9486, AG 1051, C 701, FO-01)*. 2001. 47p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária da Universidade Federal Minas Gerais, Belo Horizonte.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. *et al.* A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Techn.*, v.79, p.321-330, 1999.

MAURÍCIO, R.M., PEREIRA, L.G.R., GONCALVES, L.C. *et al.* Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, vol.55, n.2, p.216-219, 2003.

MCALLAN, A.B., PHIPPS, R.H. The effect of sample date and plant density on the carbohydrate content of forage maize and the changes that occur on ensiling. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v. 89, p. 589-597, 1977.

McDONALD, J. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agric. Sci.* Cambridge. v.96, n.1, p.251-252, 1981.

MCDONALD, P., HENDERSON, A.R., HERON, S.J.E. *The biochemistry of silage*. 2<sup>a</sup> Ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340p.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feed in the rumen. *J. Agric. Sci.*, v. 88, n.3, p.645-650, 1977.

MENEGATTI, D. P. *Nitrogênio na produção e no valor nutritivo de três*

*gramíneas do gênero Cynodon*. 1999. 76p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MEPHAN, T. B. Amino Acid utilization by lactating mammary gland. *J. Dairy Sci.*, v.65, n. 2. p. 287-298, 1982.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G.C. (ed). *Forage quality evaluation and utilization*. Lincoln: University of Nebraska. 1994. p.-450-492.

MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: FORBES, J.M.; FRANCE, J. *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. Londres: CAB International, 1993. Cap. 2, p.14-51.

MERTZ, E.T.; BATS, L.S.; NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm, *Science*, n. 145, p. 279-280, 1964.

MESSMAN, M.A.; WEISS, W.P.; KOCH, M.E. Changes in total and individual proteins during drying, ensiling, and ruminal fermentation of forages. *J. Dairy Sci.*, v. 77, n. 2, p. 492-500, 1994.

MILLS, J.A.; KUNG JR., L. The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. *J. Dairy Sci.*, v. 85, n. 8, p. 1969-1975, 2002.

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

MISRA, P.S.; MERTZ, E.T. GLOVER, D.V. Studies on corn proteins. VI. Endosperm protein changes in single and double endosperm mutants of maize. *Cereal Chem.*, v. 52, n. 2, p. 161-166, 1975.

MOORE, K. J.; HATFIELD, R. D. Carbohydrates and forage quality. In:

- FAHEY Jr, G.C. *Forage quality, evaluation and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p. 229-280, 1994.
- MORRISON, I.M. Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v. 93, p. 581-586, 1979.
- MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. *J. Dairy Sci.* v. 71, n. 11, p. 2992-3002, 1988.
- MUSTAFA, A.F.; SEGUIN, P.; QUELLET, D.R.; *et al.* Effects of cultivars on ensiling characteristics, chemical composition and ruminal degradability of Pea silage. *J. Dairy Sci.*, v. 85, n. 12, p. 3411-3419, 2002.
- NASCIMENTO, C. H. F. *Composição química e digestibilidade de três gramíneas tropicais em diferentes idades*. 1970. 84p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). *Nutrients Requirements of Dairy Cattle*. Washington, DC: Natl. Acad. Sc., 7a rev. ed., 2001. 408 p.
- NAVES, M.M.; SILVA, M.S.; CERQUEIRA, F.M.; PAES, M.C.D. Avaliação química e biológica da proteína do grão em cultivares de milho de perfil modificado de aminoácidos. *Pesq. Agrop. Trop.*, v. 31, n. 1, p.1-8, 2004.
- NEIVA, J.N.M.; GARCIA, R.; VALADARES, FILHO, S.C. *et al.* Consumo e digestibilidade aparente de matéria seca e nutrientes em dietas à base de silagens e rolão de milho amonizados. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 27, n.3, p. 453-460, 1988.
- NOCEK, J. E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. *J. Dairy Sci.*, v.71, n.8, p.2051-2069, 1988
- O'KIELY, P., MUCK, R.E. Aerobic deterioration of Lucerne (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*) silages – effects of yeasts. *J. Sci. Food Agric.*, v. 59, p. 139-144, 1992.
- 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. *J. Dairy Sci.* v.82, n.3, p. 589-596, 1999.
- OHSHIMA, M., McDONALD, P. A review of the changes in nitrogenous compounds of herbage during ensiling. *J. Sci. Food Agric.*, v. 29, p. 497-505, 1978.
- OHSHIMA, M., McDONALD, P., ACAMOVIC, T. Changes during ensilage in the nitrogenous components of fresh and additive treated ryegrass and Lucerne. *J. Sci. Food Agric.*, v. 30, p. 97-106, 1979.
- OLIVEIRA, J.S., BRAGA, R.A.N.; LOPES, F.C.F. *et al.* Avaliação da qualidade da planta de milho para silagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, vol. 1, 1997, Juiz de Fora, MG, *Anais...* p.161-163.
- ØRSKOV, E.R. *Trails and trails in livestock research*. Aberdeen: Garamond, 2002. 204p.
- ØRSKOV, E. R.; HOVELL, F.D.B.; MOULD, F. The use of the náilon bag technique for evaluation of feedstuffs. *Trop. Anim. Prod.*, v.5, p.195-213, 1980.

- ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. M. The estimation of protein degradability in the Rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.* v.92, p.499-503, 1979.
- ØRSKOV, E.R., HOVELL, F.D.B. AND MOULD, F. The use of the náilon bag technique for evaluation of feedstuffs. *Trop. Anim. Prod.*, v.5, p.195-213, 1980.
- PETTERSSON, K.L., LINDGREN, S. The influence of the carbohydrate fraction and additives on silage quality. *Grassland For. Sci.* v. 45, p. 223-233, 1990.
- PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *An. Feed Sci. Techn.*, v. 68, p. 25-35, 1997.
- PIXLEY, K.V.; BJARNASON, M.S. Stability of grain yield, endosperm modification, and protein quality of hybrid and open-pollinated quality protein maize (QPM) cultivars. *Crop Sci.*, v. 42, p. 1882-1890, 2002.
- PRASANNA, B.M.; VASAL, S.K.; KASSAHUN, B.; SINGH, N.N. Quality protein maize. *Curr. Sci.*, v. 81, n. 10, p. 1308-1319, 2001.
- RIBAS, M.N. *Avaliação nutricional de silagens de híbridos de milho com diferentes graus de vitreosidade e com perfil de aminoácidos modificado*. 2006. 61p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- ROCHA JÚNIOR, V.R. *Qualidade das silagens de sete genótipos de sorgo [Sorghum bicolor (L.) Moench] e seus padrões de fermentação*. 1999. 132p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária da Universidade Federal Minas Gerais, Belo Horizonte.
- RODRIGUEZ, N. M., FERNANDES, P.C.C., MOREIRA, J.F.C., GONÇALVES, L.C. Ruminal aminoacid degradability of soybean meal in bovines. In: The 8th World Conference on Animal Production. June 28-July 4, 1998. Seoul National University, Seoul, Korea, *Anais...* 1998, p. 368-369.
- RUXTON, I.B., CLARK, B.J. MCDONALD, P. A review of the effects of oxygen on ensilage. *J. Br. Grassland. Soc.*, v. 30, p. 23-30, 1975.
- SALIBA, E.O.S. *Caracterização Química e Microscópica das Ligninas dos Resíduos Agrícolas de Milho e de Soja Expostas à Degradação Ruminal e seu Efeito sobre a Digestibilidade dos Carboidratos Estruturais*. 1998. 251p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SAMPAIO, I. B. M. Contribuições estatísticas e de técnica experimental para ensaios de degradabilidade de forragens quando avaliadas *in situ*. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE RUMINANTES. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 31., 1994, Maringá. *Anais...* Maringá: SBZ, 1994. p.81-88.
- SAMPAIO, I.B.M. *Experimental designs and modelling techniques in the study of roughage degradation in Rumen and growth of ruminants*. 1988. 214p. Tese (Doutorado em Fisiologia). University of Reading, Reading.
- SATTER, L.D., SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on Rumen microbial protein production *in vitro*. *British J. Nut.*, v.32, n.7, p.199-205, 1974.
- SAUVANT, D. Rumen mathematical modeling. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.) *The Rumen Microbial*

- Ecosystem*. London: Blackie Academic and Professional, p.685-708, 1997.
- SILVA, J. F., LEÃO, M. I. *Fundamentos de nutrição dos ruminantes*. Piracicaba: Ceres, 1979. 379p.
- SNIFFEN, C. J.; BEVERLY, R. W.; MOONEY, C. S. *et al.* Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. *J. Dairy Sci.*, v.76, n.10, p.3160-3178. 1993.
- SNYMAN, L.D., JOUBERT, H.W. Effects of maturity stage and method of preservation on the yield and quality of forage sorghum. *Anim. Feed Sci. Technol.* v. 57, p. 63-73, 1996.
- TERADA, F.; SHIOYA, S.; SHIRAISH, *et al.* Prediction of dry matter intake of lactating cows in summer. *Anim. Feed. Sci. Techn.* v. 68, n.2, p.191. 1957.
- THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S. *et al.* A new gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminal feeds. *Anim. Feed Sci. Techn.* v. 48, p. 185-197, 1994.
- THIAGO, L. R. L. S., GILL, M. Consumo voluntário de forragens por ruminantes: mecanismo físico ou fisiológico? In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1990. Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1990. p.77-108.
- THOMAS, E.D, MANDEBVU, P, BALLARD, C.S, SNIFFEN, C.J., CARTER, M.P, BECKET, J. Comparison of Corn Silage Hybrids for Yield, Nutrient Composition, *In vitro* Digestibility, and Milk Yield by Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, v.84, p.2217-2226, 2000.
- TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the “*in vitro*” digestion of forage crops. *J. Br. Grassland Soc.*, v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2 Ed. Ithaca: Cornell University Press, 476 p., 1994.
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VASAL, S.K. Quality Protein Maize Story. In: IMPROVING HUMAN NUTRITION THROUGH AGRICULTURE: THE ROLE OF INTERNATIONAL AGRICULTURE RESEARCH., 1999, Los Banos, Filipinas. *Anais...* Los Banos, 1999, p. 1-16.
- WEST, J. R. Some aspects of constraint to forage consumption by ruminants. *Austr. J. Agric. Res.*, v.47, n.1, p.175-197. 1996.
- WILSON, J. R.; KENNEDY, P. M. Plant and animal constraints to voluntary intake associated with fiber characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *Austr. J. Agric. Res.* v.47, n.1, p.199-225. 1996.
- WOLF, D.P.; COORS, J.G.; ALBRECHT, D.J.; CARTER, P.R. Agronomic evaluation of maize genotypes selected for extreme fiber concentrations. *Crop Sci.*, v.33, n.6, p.1359-1365, 1993.