

MARCOS ANDRÉ ARCARI

**Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reidratado
e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso**



Pirassununga

2013

MARCOS ANDRÉ ARCARI

**Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reidratado
e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Phd. Marcos Veiga dos Santos

Pirassununga

2013

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2915
FMVZ

Arcari, Marcos André

Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reidratado e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso / Marcos André Arcari. -- 2013.
98 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2014.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos.

1. Milho. 2. Ensilagem. 3. Leite. 4. Digestibilidade. 5. Amido. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Disponibilidade ruminal de amido, teor e degradabilidade da proteína bruta em dietas a base de silagem cana-de-açúcar para vacas leiteiras", protocolado sob o nº 2671/2012, utilizando 12 (doze) vacas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/8/2012.

We certify that the Research "Ruminal starch availability, level and degradability of crude protein in diets based on sugarcane silage for dairy cows", protocol number 2671/2012, utilizing 12 (twelve) cows, under the responsibility Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 8/15/2012.

São Paulo, 16 de agosto de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ARCARI, Marcos André

Título: Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reidratado e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho as pessoas mais importantes de minha vida.

Estas que sempre me deram carinho e amor, que estiveram ao meu lado em todos os momentos e ensinaram-me o respeito, a humildade, a disciplina, compromisso e o valor das coisas.

Eles que são meu maior orgulho e exemplo.

Dedico esta dissertação aos meus pais, minha esposa e meu filho.

Gildo Pedro Arcari, Isolda Arcari, Luciane Grutka Arcari e Miguel Arcari.

AGRADECIMENTOS

À toda a minha família que sempre me incentivou nesta longa caminhada. Família que me ensinou a superar as dificuldades a distancia e a saudade e prol de um futuro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos pela orientação e ensinamentos e a confiança depositada em mim. Obrigado por esta oportunidade de trabalho a qual me agregou muitos conhecimentos e experiências que foram essenciais para minha formação profissional.

Ao pesquisador, Cristan Martins pelo gesto grandioso em me ajudar nas coletas das amostras e experimento pela colaboração no desenvolvimento de todo o trabalho. Muito obrigado pelos momentos de conselhos, pelo ombro amigo, por me fazer rir quando tudo parecia estar perdido e por me ensinar lições de vida. À vocês meus amigos, meu muito obrigado.

À todos os meus amigos do laboratório de TPOA da FMVZ/USP, pelos bons momentos de convivência. A eles ainda, agradeço com imenso carinho o fato de nunca hesitarem esforços em colaborar com este trabalho.

Aos especialistas do laboratório TPOA da FMVZ/USP, José Francisco Garcia Moreno e Lucinéia Mestieri, que contribuíram nas análises laboratoriais.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP) pela oportunidade de realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio ao projeto.

Aos estagiários, Willian, João, Maria, Julia pela ajuda e dedicação durante o experimento.

Aos professores e funcionários do Departamento de Nutrição e Produção animal da FMVZ/USP pela parceria e realizações das análises.

À todos que aqui não citei, mas que de alguma forma contribuíram para a realização do trabalho.

EPIGRAFE

“Não existem sonhos impossíveis para aqueles que realmente acreditam que o poder realizador reside no interior de cada ser humano, sempre que alguém descobre esse poder algo antes considerado impossível se torna realidade.”

Albert Einstein

RESUMO

ARCARI, M. A. **Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reidratado e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso.** [Availability ruminal starch content and degradability of crude protein in diets based on silage cane sugar for dairy cows]. 2014. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

O presente estudo foi conduzido em dois experimentos (I e II) cujos objetivos foram: Experimento I: avaliar o efeito do tempo de ensilagem sobre a degradabilidade in situ e o perfil fermentativo da silagem de milho reidratado. Para silagem de MRE, 22 amostras de milho moído (2 mm) com 67% (± 3) vitreosidade foram reidratados para obter umidade final de 34% MS e ensiladas com densidade de 880 Kg/m³. Durante um período de 330 dias, foi realizada coleta de duas amostras mensais as quais foram congeladas (-20°C). Após 330 dias, as amostras foram descongeladas para análise de MS, pH, PB e amido e para ensaio de degradabilidade in situ. Para o ensaio de degradabilidade foram utilizados dois novilhos da raça nelore previamente adaptados, portadores de fístulas ruminais. As amostras de MRE foram incubadas por 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48 horas. A fração rapidamente degradável da MS (fração A) aumentou ao longo do tempo de ensilagem ao mesmo tempo em que a fração lentamente degradável da MS (fração B) foi diminuída com a evolução do tempo de ensilagem. A taxa de degradação da fração lentamente degradável (fração C) também foi elevada de acordo como tempo de ensilagem. No experimento II, objetivou-se de avaliar o efeito da substituição do milho seco moído (MSM) por milho reidratado e ensilado (MRE), sobre o consumo, digestibilidade, fermentação ruminal, produção e composição do leite. Doze vacas da raça Holandesa com 550(± 30) kg peso vivo e 220(± 40) dias em lactação foram distribuídas em 3 quadrados latinos 4x4 com 4 tratamentos e 4 períodos, com 14 dias para adaptação e 7 dias para coleta de amostras e dados. As dietas experimentais consistiram de quatro níveis (0, 33, 66 e 100%), de substituição de MSM por MRE. A silagem de cana-de-açúcar foi a fonte de volumoso utilizado nas dietas, perfazendo um total de 46% MS. As vacas foram alimentadas duas vezes ao dia com dieta total formulada para ser isoenergética (1.55 Mcal/Kg MS) e isoproteica (150 g/Kg MS), tendo como única fonte de variação entre as dietas a substituição gradual do MSM por MRE. Os consumos de matéria seca, matéria orgânica, proteína, carboidratos não fibrosos e carboidratos totais foram maiores em vacas alimentadas com dieta de 100% de substituição do MSM por MRE em comparação com a

dieta com 0% de substituição. O consumo de amido foi menor para vacas alimentadas com de 100% em relação à dieta com 0% de substituição. As vacas que foram alimentadas com a dieta 100% de substituição obtiveram maior produção de leite, leite corrigido para gordura, produção de gordura, proteína, caseína e lactose maiores em relação a dieta controle. A digestibilidade aparente da matéria seca, extrato etéreo, carboidratos totais, carboidratos não fibrosos, matéria orgânica, proteína bruta e amido foi maior em vacas alimentadas com a dieta com 100% de substituição em relação a dieta com 0% de substituição de MRE por MSM. A produção relativa de ácido propiônico foi maior e a concentração de N-NH₃ foi menor 3 horas após a alimentação no fluido ruminal para vacas alimentadas com a dieta de 100% de substituição em relação a dieta com 0% de substituição. O tempo de ensilagem atua progressivamente a velocidade de degradação da MS do MRE. Além disso, a substituição total do MSM por MRE na dieta de vacas leiteiras aumentou o consumo, digestibilidade, produção de leite e sólidos, diminuiu a concentração de amônia e aumentou a proporção de ácido propiônico no fluido ruminal.

Palavras-chave: Milho. Ensilagem. Leite. Digestibilidade. Amido.

ABSTRACT

ARCARI, M. A. **Availability ruminal starch content and degradability of crude protein in diets based on silage cane sugar for dairy cows.** [Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reidratado e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso]. 2014. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

This study was conducted in two experiments (I and II) whose objectives were: Experiment I: evaluating the effect of time of ensiling on in situ degradability and fermentation characteristics of corn kernel silage rehydrated. For silage MRE, 22 samples of ground corn (2 mm) with 67% (± 3) vitreousness were rehydrated for final moisture content of 34% DM and ensiled with density of 880 kg/m³. Over a period of 330 days monthly collection of two samples which were frozen (-20°C) was performed. After 330 days, the samples were thawed for analysis DM, pH, and starch and PB for testing in situ. To test the degradability of two young bulls Nelore previously adapted, suffering and cannulated were used. MRE samples were incubated with 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48 hours. The rapidly degradable fraction of DM (fraction A) increased over time silage while the slowly degradable fraction of DM (fraction B) was decreased with the time evolution of silage. The rate of degradation of the slowly degradable fraction (fraction C) was also high according to time of ensiling. In the second experiment aimed to evaluate the effect of replacing dry ground corn (DGC) for rehydrated and ensiled corn (REC) on intake, digestibility, ruminal fermentation, milk production and composition. Twelve Holstein cows with 550 (± 30) kg body weight and 220 (± 40) days in milk were distributed in 3 4x4 Latin square design with 4 treatments and 4 periods, with 14 days for adaptation and 7 days for sample collection and data. The experimental diets consisted of four levels (0, 33, 66 and 100%), replacement of DGC with REC. Silage cane sugar was the source of roughage in the diets used, totaling 46% MS. Cows were fed twice daily with complete diet formulated to be isocaloric (1.55 Mcal/kg DM) and isoproteic (150 g/kg DM), whose only source of variation between diets gradual replacement of MSM with SRM. The intake of starch was lower for cows fed DE100% compared to diet with 0% replacement. Cows that were fed diet 100% replacement had higher milk yield, fat corrected milk yield, fat yield, protein, casein and lactose higher compared to the control diet. The apparent digestibility of dry matter, ether layer, total carbohydrates, no fiber carbohydrates,

organic matter, crude protein and starch was higher in cows fed the diet with 100% replacement diet compared with 0% replacement of SRM by DGC. The relative production of propionic acid was higher and the concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ was lower 3 h after feeding in ruminal fluid for cows fed the diet 100% replacement diet compared with 0% replacement. The relative production of propionic acid was higher and aconcentração of $\text{NH}_3\text{-N}$ was lower 3 hours after feeding in ruminal fluid for cows fed diet 100 % replacement diet cm compared to 0 % replacement. The time of ensiling progressively operates the degradation rate of MS MRE. Also complete replacement of DGC by REC in the diet of dairy cows increased intake, digestibility, milk yield and solids decreased the ammonia concentration and increased the proportion of propionic acid in the rumen fluid.

Keywords: Corn. Ensiling. Milk. Digestibility. Starch.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Proporção de ingredientes e composição química com base na matéria seca.....	41
Tabela 2- Efeito do tempo de ensilagem sobre a composição do milho reidratado e ensilado (MRE)	44
Tabela 3 - Médias ajustadas de degradabilidade ruminal da MS do MRE em relação ao tempo de ensilagem	48
Tabela 4 - Proporção dos ingredientes da dieta e composição química, expressos na matéria seca (g/Kg de MS), de acordo com o nível de substituição do milho seco moído (MSM) por milho moído reidratado e ensilado (MRE).....	65
Tabela 5 - Composição dos ingredientes da dieta expressos com base na MS	66
Tabela 6 - Efeito do nível de substituição do milho seco moído (MSM) por milho reidratado e ensilado (MRE) sobre consumo de nutrientes expressos com base na matéria seca	71
Tabela 7 - Efeito do nível de substituição do milho seco moído (MSM) por milho reidratado e ensilado (MRE) sobre a produção e composição do leite.	73
Tabela 8 - Médias ajustadas para efeito do teor de substituição de MSM por MRE das dietas sobre a digestibilidade dos nutrientes.....	74
Tabela 9 - Médias ajustadas para efeito do teor de substituição de MSM por MRE das dietas sobre a produção de AGCC, pH e N-NH ₃ do fluido ruminal em 0 e 3 horas após a alimentação.	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição espacial dos components do grão de milho.....	21
Figura 2 - Micrografia eletrônica do endosperma de milho duro (a) e milho farinaceo (b).....	26
Figura 3 - Efeito do tempo de ensilagem sobre a concentração de amido, pH e N- NH3 no milho reidratado e ensilado (MRE).....	46
Figura 4 - Efeito de tempo de ensilagem sobre a concentração de ácido acético e ácido lático no milho reidratado e ensilado (MRE).....	47
Figura 5 - Efeito do tempo de ensilagem sobre a fração A, B e C da MS do milho reidratado e ensilado (MRE).....	50
Figura 6 - Efeito do tempo de ensilagem sobre a degradabilidade ruminal do MRE em taxas de passagem do conteúdo ruminal a 2,5 e 8%/hora.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AS	Amido nas sobras
CA	Consumo de amido
CD	Coefficiente de digestibilidade
CMS	Consumo de matéria seca
CHOT	Carboidratos totais
CHO	Carboidratos
CNF	Carboidrato não fibroso
EE	Extrato etéreo
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MRE	Milho reidratado e ensilado
MS	Matéria seca
MSM	Milho seco moido
N	Nitrogênio
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NIDA	Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
NIDN	Nitrogênio insolúvel em detergente neutro
NNP	Nitrogênio não proteico
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
NUL	Nitrogênio ureico no leite
PB	Proteína bruta
PDR	Proteína degradável no rúmen
pH	Potencial hidrogeniônico
PL	Produção de leite
PM	Proteína metabolizável
PLC	Produção de leite corrigida
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
PV	Peso vivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	Capítulo I.....	20
2.1	Revisão de Literatura.....	20
2.1.1	Milho.....	20
2.1.2	Proteínas do Endosperma.....	24
2.1.3	Milho na alimentação de ruminantes.....	26
2.1.4	Milho reidratado e ensilado.....	29
2.1.5	Cana-de-Açúcar.....	31
2.1.6	Silagem de Cana-de-açúcar.....	32
2.1.7	Desempenho Animal.....	35
3	Capítulo II.....	37
3.1	Efeito do tempo de ensilagem sobre a degradabilidade da MS em MRE.....	37
3.2	Introdução.....	39
3.3	Materiais e Métodos.....	40
3.3.1	Animais, dietas, instalações.....	40
3.3.2	Reidratação e ensilagem do milho.....	41
3.3.3	Ensaio de Degradabilidade <i>in situ</i>	42
3.4	Resultados.....	43
3.5	Discussão.....	53
3.6	Conclusão.....	59
4	Capítulo III.....	60
4.1	Produção de leite e digestibilidade de nutrientes de vacas leiteiras alimentadas com milho reidratado e ensilado.....	60
4.2	Introdução.....	63
4.3	Materiais e métodos.....	64
4.3.1	Animais e instalações.....	64
4.3.2	Alimentação e dietas.....	64
4.3.3	Coleta de amostras e análises de alimentos.....	67
4.3.4	Coleta e análise de leite.....	67
4.3.5	Digestibilidade aparente total da dieta e parâmetros ruminais.....	68
4.4	Resultados.....	69

4.4.1	Produção e composição do leite	71
4.4.2	Digestibilidade aparente	73
4.4.3	Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC), N-NH ₃ e pH ruminal	75
4.5	Discussão	76
4.5.1	Consumo	76
4.5.2	Digestibilidade	78
4.5.3	Produção e Composição do Leite	80
4.5.4	Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC), NH ₃ e pH ruminal	81
4.6	Conclusão	83
	REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

A importância econômica e nutricional do grão de milho (*Zea mays*) é caracterizada pelas diversas formas de utilização, as quais incluem desde a alimentação animal até a indústria farmacêutica de alta tecnologia. Cerca de 70% do milho produzido no mundo é destinado à alimentação animal, podendo este percentual chegar a 85% em países desenvolvidos. O restante destina-se ao consumo humano, de forma direta ou indireta (Paes, 2006).

O consumo de milho no Brasil está distribuído em três principais setores: a avicultura (60,5%), suinocultura (28,5%) e os 11% restantes destinados à alimentação de ruminantes e outras espécies (LIMA 2001). Na alimentação de bovinos, assim como em outras espécies, o milho é fundamentalmente utilizado como concentrado energético em razão do alto teor de amido. O amido apresenta valor energético superior aos carboidratos não fibrosos presentes nas dietas de ruminantes, cujo uso principal é o adensamento de dietas de animais de alto desempenho (Owens et al 1998).

Os atuais sistemas de produção de leite, mesmo aqueles que são dependentes de menores quantidades de alimentos concentrados, têm maior produtividade e lucratividade quando há maior aproveitamento dos alimentos pelas vacas. O desempenho de vacas leiteiras está diretamente relacionado ao consumo de nutrientes, à natureza física, química e à digestibilidade dos alimentos (FERRELL, 1993). Altos níveis de produção estão associados ao aumento da inclusão na dieta de grãos ricos em carboidratos rapidamente fermentáveis. Por outro lado, o excesso de inclusão destes grãos pode ocasionar diminuição do pH ruminal, redução da digestibilidade da fibra (OWENS e GOETSCH, 1993; VAN SOEST, 1994) e diminuição no consumo (BENGOCHEA et al., 2005).

O amido é o principal carboidrato do grão do milho e constitui a principal fonte de energia em dietas para vacas em lactação de média e alta produção. Este carboidrato representa 70 a 80% da matéria seca (MS) na maioria dos grãos de cereais. Deste modo, o aproveitamento eficiente do amido da dieta é um fator crítico para o desempenho dos sistemas de produção. Entretanto, a maioria dos híbridos de milho cultivados no Brasil, possui alta vitreosidade, que é definido como a porção do amido envolvida por uma densa camada proteica (PEREIRA et al., 2004). O uso de variedades de milho com maiores percentuais de endosperma vítreo resulta em menor degradabilidade ruminal do amido *in vitro* ou *in situ*

(PHILIPPEAU et al, 2000; CORREA et al, 2002; NGONYAMO-MAJEE et al, 2008). Além disso, variedades de milho com alta vitreosidade diminuem a digestibilidade do amido *in vivo* (ALLEN et al., 2008) e decréscimo da produção de leite (TAYLOR e ALLEN, 2005). Portanto, otimizar a eficiência de utilização do amido em dietas de vacas leiteiras é fundamental para maximizar/otimizar produção de leite (PIRES et al, 2008).

Além das características de endosperma do milho, o tipo de processamento exerce influência sobre a digestibilidade do amido (OWENS et al., 1986, THEURER, 1986). O processamento do milho aumenta a exposição dos grânulos de amido e facilitar os processos enzimáticos de degradação e digestão do amido pela microbiota ruminal para (BEAUCHEMIN et al., 1994). A formação de fissuras, quebra em variados tamanhos de partícula ou expansão do grânulo de amido, tornam mais fácil o acesso e ação das enzimas bacterianas e digestivas do animal (KOTARSKI et al., 1992). Entretanto, a maior parte dos tipos de processamentos do milho atuam em nível da barreira externa do grão (pericarpo), agindo com menor intensidade sobre a matriz proteica, que recobre os grânulos de amido.

Em extensa revisão de estudos sobre o local de digestão do amido, foi relatado que a fonte, o tipo e o método de processamento do grão, exercem grandes influências sobre sítio (rúmen ou intestino) e a extensão da digestibilidade do amido (HERRERA-SALDANA E HUBER, 1989). A floculação e os grãos de alta umidade foram descritas como métodos que mais aumentam a digestibilidade ruminal do amido do milho e do sorgo. Também foi observado que os maiores benefícios do processamento ocorrem para o milho e para o sorgo, em comparação com pequenos grãos (ROONEY e PFLUGFELDER, 1986; THEURER, 1986). Apesar dos cálculos de Owens e Goetsch (1986) indicarem eficiência de uso da energia da dieta de 42% superior quando o amido é digerido no intestino delgado em comparação com a fermentação ruminal, alguns estudos relataram que o desempenho de novilhos de corte (ALIO et al., 2000; LOZANO et al., 2000) e de vacas leiteiras (THEURER et al., 1999) foi superior quando as fontes de amido foram degradadas no rúmen, em comparação da digestão intestinal. Portanto, processamentos que aumentam a degradabilidade ruminal do amido do milho preferenciais a serem usados no tratamento dos grãos. Deste modo, para aumentar a digestibilidade do amido do milho, é preciso diminuir as barreiras impostas pelo pericarpo e matriz proteica, através de meios econômicos e sustentáveis.

O uso da colheita do grão em estágio de linha negra (35 – 38% MS) sucedido pela ensilagem é uma técnica capaz de aumentar a degradabilidade ruminal do amido do milho de variedades de elevada vitreosidade. O processo de ensilagem aumenta a degradabilidade do amido através da proteólise da matriz proteica que envolve os grânulos de amido por enzimas

produzidas por microrganismos fermentadores (BARON et al., 1986; HOFFMAN et al., 2011). Embora o processo de ensilagem seja considerado um método clássico de conservação, esta técnica pode aumentar ao longo do tempo a digestibilidade *in vitro* da silagem de milho (planta inteira) (HALLADA, 2009). Os efeitos de aumento da digestibilidade em relação ao tempo de ensilagem podem ser explicados pelo efeito do tempo de ensilagem (fermentação continuada mais ação dos produtos finais de fermentação) sobre a diminuição da integridade da matriz proteica do endosperma de silage de grão úmido em longos períodos de ensilagem (HOFFMAN et al, 2011). A diminuição da integridade da matriz proteica que revestem os grânulos de amido pode tornar o amido mais susceptível ao ataque enzimático por parte das bactérias e enzimas digestivas do próprio animal. A ensilagem do grão de milho em estágio de maturidade conhecido como linha negra representa uma alternativa para a indução a degradação a matriz proteica que envolve o grânulo de amido. Entretanto, a confecção da silagem de grão úmido pode apresentar limitações operacionais, climáticas, além de estar sujeito a janela de colheita que podem dificultar a ensilagem. Alternativamente à silagem de grão úmido, a reidratação do milho colhido em estágio completo de maturidade, processado por moagem, reidratado e ensilado, pode ser uma técnica para flexibilizar e viabilizar as limitações ligadas à falta de equipamentos eficazes para colher milho com umidade alta, atrasos na colheita, adversidades climáticas ou a impossibilidade de produção do grão na propriedade.

Estudos que analisaram a fermentabilidade de fontes de amido utilizaram com sucesso silagem de grão úmido ou milho floculado como meios de aumento na digestibilidade do amido (KNOWLTON et al 1998; OBA e ALLEN 2007; BRADFORD e ALLEN, 2007). Entretanto, são escassos os estudos sobre o aumento da degradabilidade ruminal de fontes de amido a partir de grãos de milho colhidos maduros, reidratados e ensilados em dietas de vacas leiteiras. Neste contexto, este estudo teve o objetivo de estudar o efeito do tempo de ensilagem sobre o comportamento fermentativo do MRE com média (experimento I). Adicionalmente no experimento II, teve o objetivo de avaliar o efeito da substituição do MSM por MRE sobre o consumo de matéria seca, a produção e composição do leite e parâmetros fermentativos ruminais de vacas leiteiras em final de lactação.

2 CAPITULO I

2.1 Revisão de Literatura

2.1.1 Milho

A caracterização dos potenciais e aspectos limitantes, assim como as estruturas que compõem o grão do milho são importantes no âmbito da nutrição animal, uma vez que este é o principal cereal utilizado em dietas para vacas leiteiras no Brasil e no mundo. Em recente revisão 41 estudos, sobre degradabilidade e digestibilidade total de amido dietético foi observado que mais de 50% das 161 dietas estudadas utilizaram o grão de milho como fonte de amido (PATTON et al., 2012). O volume de uso deste grão no âmbito das pesquisas reflete a predominância e importância deste grão na nutrição de vacas leiteiras. Além de ser a fonte de amido predominante nos estudos, o grão de milho também foi a fonte de amido que apresentou maior variabilidade na degradabilidade ruminal, o que sugere a necessidade de maiores investigações acerca dos fatores que variabilidade.

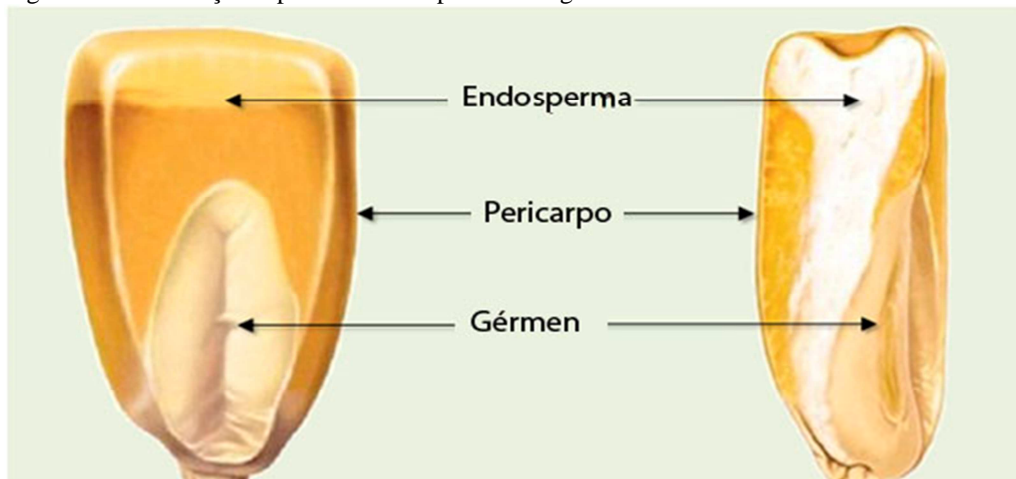
O milho é uma das culturas comerciais mais importantes com origens nas Américas, havendo provas de que é cultivado há pelo menos 5.000 anos. Sua origem é muito discutida e a hipótese mais aceita é a de que o milho seja descendente do teosinte, que é uma gramínea com várias espigas sem sabugo, que pode cruzar naturalmente com o milho e produzir descendentes férteis (GALINAT, 1995). Embora seja uma planta de origem tropical, é cultivado globalmente (DUARTE, 2004). O uso do milho em grão como alimento animal representa cerca de 70% do consumo deste cereal no mundo. No Brasil, o consumo do milho para alimentação animal varia de 70 a 80% (EMBRAPA, 2011). Apesar de estar entre os principais produtores, o Brasil responde por cerca de 6% do montante produzido e por aproximadamente 10% da área cultivada, mas não tem expressão como exportador deste cereal (FAO, 2011). Desta forma, o país não se destaca entre os de maior produtividade, mas possui grande potencial para aumentar a sua produtividade, sendo ótima opção para o agricultor (RIVERA, 2006).

De acordo com a classificação botânica, o milho é uma monocotiledônea, pertencente à família Poaceae, subfamília Panicoideae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. É uma planta

herbácea, monóica, isto é, possuem os dois sexos na mesma planta em inflorescências diferentes. É uma planta anual, ou seja, completa o ciclo em quatro a cinco meses (PONS e BRESOLIN, 1981). É classificada ainda como uma cariopse e o seu grão é formado por quatro principais estruturas físicas. Os grãos do milho são, geralmente, amarelos ou brancos, podendo apresentar colorações variando desde o preto até o vermelho. O peso individual do grão varia, em média, de 250 a 300mg e sua composição média em base seca é 72% de amido, 9,5% proteínas, 9% fibra (a maioria resíduo detergente neutro) e 4% de óleo (PAES, 2008).

As quatro principais estruturas físicas do grão de milho são: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta (Figura 1). O endosperma é responsável por cerca de 83% da MS do grão. O principal componente do endosperma é o amido (88%), o qual está organizado na forma de grânulos. No endosperma estão também presentes as proteínas de reserva (8%) do tipo prolaminas. Essas proteínas formam os corpos protéicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma. No endosperma, especificamente, na camada de aleurona e no endosperma vítreo, estão presentes os carotenóides, substâncias lipídicas que conferem a cor ao grão de milho. Zeaxantina, luteína, beta-criptoxantina, alfa e beta carotenos são os principais carotenóides nos grãos de milho (PAES, 2008).

Figura 1 - Distribuição espacial dos componentes do grão de milho



Fonte: www.milkpoint.com.br/ conhecendo e escolhendo híbridos de milho para silagem

O gérmen representa 11% do grão de milho e concentra quase a totalidade dos lipídeos e dos minerais do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%). O gérmen é considerado o embrião do grão e deste modo é a fração viva do grão e

onde estão presentes as proteínas do tipo albuminas, globulinas e glutelinas, que diferem em composição e organização molecular em relação às presentes no endosperma (PAES, 2008). As proteínas de reserva, encontradas em maior abundância no grão de milho, são ricas em aminoácidos metionina e cisteína, mas são pobres em lisina e triptofano. Por esse motivo, a qualidade da proteína, em milhos não manipulados geneticamente para alterar as características proteicas do grão, é baixa, e correspondente a 65% daquela presente no leite, considerada um padrão para a nutrição humana. Por outro lado, as proteínas de reserva possuem quantidades elevadas dos aminoácidos glutamina, leucina, alanina e prolina, que conferem alta hidrofobicidade ao resíduo protéico extraído do endosperma no processo de produção do amido de milho (SHOTWELL; LARKINS, 1989).

O pericarpo representa, em média, 5% do grão, cuja função é proteger as outras estruturas do grão da umidade elevada do ambiente, de insetos e de microrganismos. As camadas de células que compõem essa fração são constituídas de polissacarídeos do tipo hemicelulose (67%) e celulose (23%), embora também contenha lignina (0,1%). A estrutura de menor importância em relação às características nutritivas e também ao peso do grão é a ponta. Representa aproximadamente 2% do grão, e é responsável pela conexão do grão ao sabugo, sendo a única área do grão não coberta pelo pericarpo. Sua composição é essencialmente de material lignocelulósico (PAES, 2008).

A principal estrutura de importância no uso deste cereal como concentrado energético é o endosperma. Esta estrutura representa a maior parte do peso seco do grão, consistindo principalmente de amido (88%), organizado na forma de grânulos (NATIONAL CORN GROWERS ASSOCIATION - NCGA, 2007). Entretanto, os grânulos de amido são envolvidos pelas proteínas de reserva (SHEWRY e HALFORD, 2002). Dentre as proteínas do endosperma destacam-se as albuminas, as globulinas, as glutelinas e as prolaminas, sendo as últimas de maior importância na nutrição de ruminantes (GIBBON; LARKINS, 2005). O conteúdo de proteína no grão de milho varia de 8-11% e as proteínas de reserva correspondem a 70-80% da proteína total do grão de milho. As prolaminas são as principais proteínas de armazenamento das sementes do milho e são ricas em prolina e glutamina (SHEWRY et al., 1999). Estas proteínas estão associadas ao amido nos grãos de todos os cereais e têm nomes específicos, como a gliadina do trigo, a kafirina do sorgo e a zeína do milho a qual representa de 30 a 60% de toda a proteína presente no grão (HAMAKER et al., 1995).

2.1.2 Amido

Os carboidratos recebem este nome por somente se apresentarem na forma de hidratos de carbono, sempre na fórmula $C_x(H_2O)_y$. Carboidratos simples são conhecidos como açúcares ou sacarídeos (Latim – saccharum, açúcar) e normalmente terminados em ose. Carboidratos são definidos quimicamente como poliidroxialdeído e cetonas ou substâncias que quando hidrolisadas formam poliidroxialdeído ou cetonas (SOLOMONS, 1992).

Os principais carboidratos constituintes dos grãos são o amido, a celulose, os açúcares simples e as pentosanas. O amido é a principal fração dos carboidratos e pode representar de 75 a 80% do peso seco do grão (ZEOULA e CALDAS NETO, 2001). O amido é um polissacarídeo não estrutural de elevado peso molecular, sintetizado pelas plantas superiores com função de reserva energética nos períodos de dormência, germinação de grãos, crescimento e rebrota (WANG et al., 1998). O amido, é o mais importante polissacarídeo de reserva vegetal. A molécula completa contém em média cerca de 2.000.000 unidades de glicose, sendo uma das maiores moléculas encontradas na natureza (MORAES, 2004). O amido quimicamente é formado por dois polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina (FRENCH, 1973). Esses dois polímeros diferenciam-se entre si quanto ao tipo de estrutura química, ao tamanho da molécula e pelas propriedades químicas. A amilose é o polímero longo e relativamente linear, disposto em dupla hélice e que apresenta a capacidade de ligar-se ao iodo, formando composto azul ou violeta. Aproximadamente 99% dos resíduos de glicose estão unidos por ligações α -(1 → 4), e o restante por ligações α -(1 → 6). A molécula é composta de 324 a 4.920 resíduos de glicose e pode ter de 9 a 20 pontos de ramificação ligações α -(1 → 6) e de 3 a 11 cadeias retilíneas. Essas cadeias são relativamente longas e podem conter de 200 a 700 resíduos de glicose. (HOOVER, 2001; TESTER et al., 2004).

A amilopectina é uma molécula maior que a da amilose (TESTER et al., 2004) e tem estrutura bastante ramificada. As cadeias lineares de glicose, unidas por ligações α -(1 → 4), têm pontos de ramificação α -(1 → 6) a cada 20 a 25 resíduos de glicose (CHESSON e FORSBERG, 1997). Estima-se que 95% dos resíduos de glicose estejam unidos por ligações α -(1 → 4) e que os outros 5% por ligações α -(1 → 6) (FRENCH, 1973). Este tipo de molécula pode conter mais de 15 mil resíduos de glicose, sendo considerada uma das maiores moléculas conhecidas. Segundo Bal et al. (1998), a complexa organização das ramificações α -(1 → 6) é responsável pelo empacotamento denso e semicristalino dos resíduos de glicose nos grânulos de amido.

A porcentagem de amilose e de amilopectina é variável segundo a origem do amido, entretanto, na maioria das espécies, o amido é composto por 30% de amilose e 70% de amilopectina (WANG et al., 1998). A amilose e a amilopectina encontram-se empacotadas nas plantas na forma de pequenos grânulos, com diâmetros variando de 1 a 200 μ m e nos formatos redondo, lenticular, oval e/ou poligonal (ROONEY e PFLUGFELDER, 1986).

A importância do estudo da composição do amido dos grãos baseia-se na maior susceptibilidade da amilose à digestão enzimática (ZEOULA e CALDAS NETO, 2001). Segundo PHILIPPEAU et al. (1998), o amido dos grãos de milho ricos em amilose foi degradado mais rápida e extensamente no rúmen que o amido dos grãos cerosos e de composição regular do amido em estudo in situ, em bovinos. Porém, a maior degradabilidade ruminal de grãos ricos em amilose foi, em grande parte dos estudos, explicada pela textura (características da proteína do endosperma), que foi mais macia do endosperma dos grãos de milho ricos em amilose.

2.1.2 Proteínas do Endosperma

Proteínas de sementes são tradicionalmente classificadas em quatro fracções com base na sua solubilidade em 1) solução aquosa (albuminas), 2) solução salina (globulinas), 3) solução a 70% de etanol (prolaminas), e 4) solução alcalina ou ácida (glutelinas) (KAKADE, 1970). Nos grãos de cereais destinados a alimentação de bovinos, as prolaminas e glutelinas representam as proteínas insolúveis e de provável resistência a degradação ruminal (SNIFFEN, 1974).

A zeína é a principal prolamina de reserva do endosperma do milho, consiste de quatro subclasses (α , β , γ , δ), e é sintetizada no retículo endoplasmático rugoso do amiloplasto (organelas produtoras de amido) (BUCHANAN et al, 2000). Com o avanço da maturidade do grão do milho a β e γ -zeínas desenvolvem ligações transversais e a α e δ -zeínas penetram em sua rede, encapsulando assim os grânulos de amido dentro de uma matriz de amido-proteína hidrofóbica (MU-FORSTER e WASSERMAN, 1998;. BUCHANAN et al, 2000). Tais proteínas diferem entre si pela sequência de aminoácidos, características de solubilidade, ponto isoelétrico e composição polipeptídica (SHEWRY e TATHAM, 1990). Tais proteínas, que constituem de 75 a 85% das zeínas totais, são ricas em resíduos de aminoácidos apolares e são, portanto, insolúveis em água e solúveis em soluções aquosas de etanol a 70%

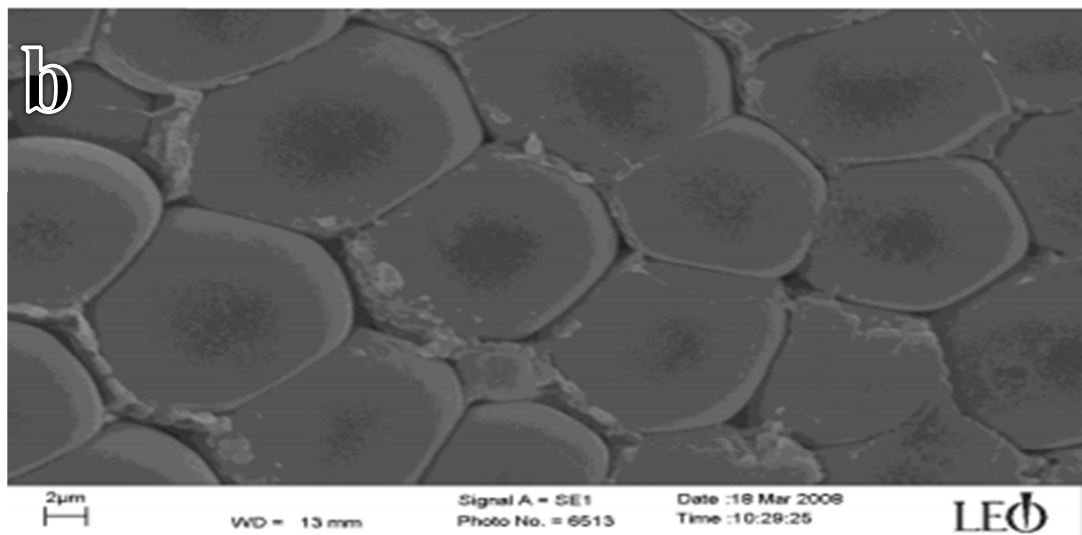
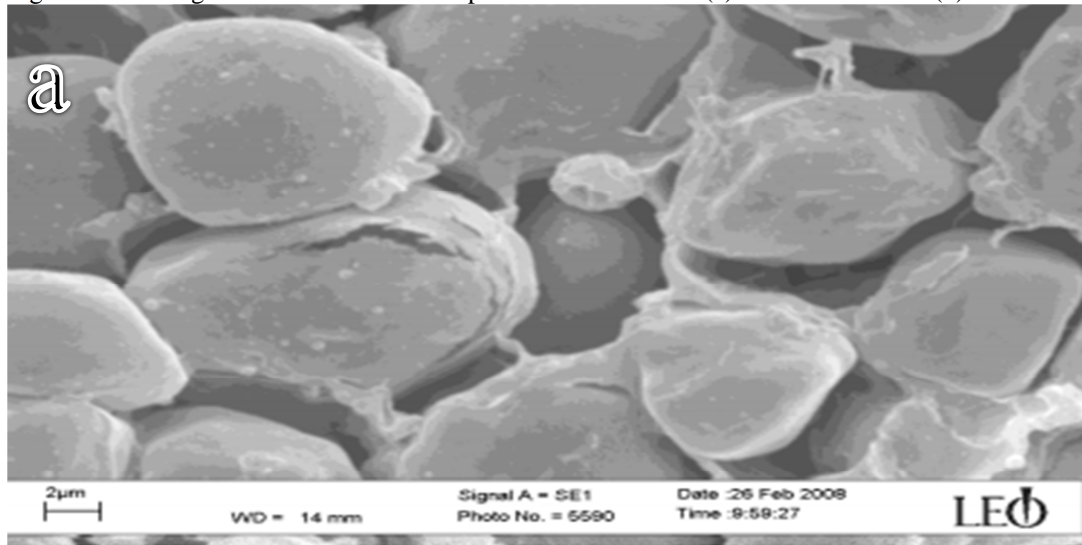
(BICUDO et al, 2006). Estas características tornam a zeína uma das proteínas mais hidrofóbicas de cereais (HOLDING e LARKINS, 2009).

As zeínas se localizam exteriormente aos grânulos de amido no endosperma. Essas proteínas formam os corpos proteicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma. Com base na distribuição dos grânulos de amido e da matriz de proteína, o endosperma é classificado em dois tipos: farináceo ou vítreo. No primeiro, os grânulos de amido são arredondados e estão dispersos, não havendo matriz proteica completa circundando essas estruturas, o que resulta em espaços vagos. De modo oposto, no endosperma vítreo, a matriz proteica é densa, com corpos proteicos estruturados, que circundam os grânulos de amido de formato poligonal, não permitindo espaços entre estas estruturas (PRATT et al., 1995).

A denominação vítrea ou opaca refere-se ao aspecto dos endospermas nos grãos quando sujeitos à luz. No endosperma opaco, os espaços vagos permitem a passagem da luz, conferindo opacidade ao material. A ausência de espaços entre os grânulos de amido com a matriz proteica promovendo a reflexão da luz resultam em aspecto vítreo ao endosperma observado nessas condições (Figura 2a). Essa propriedade tem sido aplicada para a identificação de materiais duros e farináceos, embora a vitreosidade e a dureza sejam distintas propriedades (SHOTWELL e LARKINS, 1989).

A ligação entre os grânulos de amido e a zeína é muito forte no endosperma vítreo, não permitindo que a água, as amilases e as maltases necessárias penetrem entre os grânulos para que ocorra a hidrólise enzimática do amido em glicose no rúmen ou nos intestinos. (HAMAKER et al.,1995). Os conceitos de textura do endosperma encontrados na literatura científica são vagos e subjetivos e estão geralmente associados aos métodos de determinação de textura dos grãos. A textura (strength) do endosperma de grãos foi definida como a habilidade do grão de resistir à compressão sem produzir fraturas, e a dureza (hardness) como a habilidade do grão de resistir à endentação. No entanto, o conceito de textura mais aceito se refere à proporção do endosperma vítreo (duro) em relação ao endosperma farináceo (macio) do grão, conhecido por vitreosidade (vitreousness) (CAGAMPANG e KIRLEIS, 1984). O teor de prolaminas como percentual do amido ultrapassando 10% representa valores muito elevados ao passo que valores abaixo de 2% são considerados valores muito reduzidos (HOFFMAN e SHAVER, 2010).

Figura 2 - Micrografia eletrônica do endosperma de milho duro (a) e milho farinaceo (b)



Fonte: Pereira (2011).

2.1.3 Milho na alimentação de ruminantes

O milho principal grão usado como concentrado energético e fonte de amido na pecuária leiteira e de corte. Vacas leiteiras consomem grandes quantidades de amido, na maior parte das vezes advindo do milho, que podem variar entre 20-40% da MS da dieta (STERM e HOOVER, 1979). O alto grau de inclusão do amido nas dietas de vacas leiteiras tornam a sua digestibilidade fundamental para o sucesso do uso (GRANT et al., 2005). O

amido é responsável por 75% do valor energético do grão de milho (NRC 2001), deste modo o melhor aproveitamento do amido pode representar aumento de produtividade e aumentar a eficiência. Para aumentar a digestibilidade do amido contido no grão de milho diversas técnicas de processamento foram desenvolvidos (THEURER et al., 1999), utilizando força mecânica isolada ou combinada com calor seco ou hidrotérmico, que associa o uso de calor, umidade e pressão (VAN SOEST, 1994). O primeiro objetivo desses processamentos é romper pericarpo, que circunda o germe e endosperma do grão de milho, e que é largamente resistente a adesão e degradação microbiana, o que faz com que a eliminação desta barreira aumente a digestibilidade do grão (MCALLISTER et al., 1994). Segundo Firkins et al (2001), a digestibilidade do amido para vacas leiteiras é variável e oscila entre 70 e 100%. Uma série de fatores são apontados como pontos de interferência na porção aproveitável do amido do milho, entre os quais : o método de processamento (CALLISON et al., 2001), o tamanho de partícula, a maturidade e umidade à colheita (FIRKINS et al., 2001), o método de conservação e tipo de endosperma (PEREIRA et al., 2004).

O método de processamento aplicado ao cereal pode determinar o sítio e a extensão de digestão do amido (NECEK; TAMMINGA, 1991). De acordo com Harmon et al. (2001), a quantidade de amido que pode ser digerido no intestino delgado é dependente da quantidade de amido que chegar nele. Este fato é corroborado, com uma diminuição de 30% de digestibilidade do amido descrita quando o fluxo intestinal do amido foi aumentado de 250 para 1800 g/d (MATTHÉ et al. 2001). Embora cálculos descritos por Owens e Goetsch (1986) sugiram eficiência energética superior quando o amido é digerido no intestino delgado em comparação com a fermentação ruminal. Estudos realizados nas últimas décadas indicam que o desempenho de novilhos de corte (ALIO et al., 2000; LOZANO et al., 2000) e de vacas leiteiras (THEURER et al., 1999) foram superiores quando as fontes de amido foram degradadas no rúmen em comparação com a digestão de amido no intestino. Deste modo, elevar a quantidade de amido a ser digerido no rúmen por meio de processamentos mais intensos dos grãos pode aumentar a eficiência de aproveitamento do mesmo (THEURER et al., 1999).

A quantidade de ingestão de amido e energia parece não influenciar a concentração de enzimas presentes na borda em escova do epitélio do intestino de ovinos e bovinos, sugerindo que a quantidade de amido que chega ao intestino não exerce influência sobre a digestibilidade neste sítio (HARAMON, 2009). Segundo Oba e Allen, (2003), em dietas com menor disponibilidade ruminal de amido, há menor fluxo de N microbiano para o intestino, o que sugere que uma menor quantidade de amido fermentando no rúmen seja um limitante

para o crescimento bacteriano. Aumento do fluxo de proteína para o intestino tem o potencial de aumentar a síntese de amilase pancreática o que por consequência acarreta aumento da digestibilidade do amido no sistema digestório, o que sugere a necessidade de que quantidades adequadas de amido sejam degradadas no rúmen (HUNTINGTON 1994; HUNTINGTON 1997).

Dentre os fatores responsáveis pela diminuição da digestibilidade do grão milho, principalmente das variedades cultivadas no Brasil, o tipo de endosperma (vitreosidade), cujo ponto máximo é obtido quando o grão está maduro, é um dos principais (PEREIRA et al., 2004). Após o ponto de maturação fisiológica, o grão de milho apresenta diminuição significativa da quantidade de amido fermentável no rúmen (BAL et al., 1997; JOHNSON et al., 1999;). O endosperma vítreo é duro, cristalino e possui uma matriz proteica contínua e abundante. Esta matriz que forma numerosos invólucros que revestem os grânulos de amido, dificulta ou até impossibilita movimentação de água, líquido ruminal e enzimas por entre eles (PRATT et al., 1995). A presença de invólucros proteicos hidrofóbicos e sua quantidade são apontadas com um dos principais fatores responsáveis pela diminuição da digestibilidade de grãos (KOTARSKI et al., 1992).

A presença de matriz proteica incompleta revestindo o grânulo de amido pode facilitar a ação enzimática bacteriana ao amido, melhorando deste modo digestibilidade. Grãos com maturidade incompleta contêm menos prolamina que grãos maduros (DAVIDE, 2009). O amido da silagem de grão úmido (grãos colhidos em estágio incompletos de maturação) é mais bem degradado do que o amido do grão seco (FIRKINS et al., 2001). Além do grão de milho colhido imaturo ser mais degradável pelo estágio incompleto de maturidade outro fator que é sugerido como melhorador da degradabilidade ruminal do amido é o efeito da ensilagem e do tempo que este grão permaneça armazenado (BENTON et al., 2005; NEWBOLD et al., 2006;).

Alguns estudos sugerem a hipótese de que a zeína, é degradada no processo de ensilagem (PHILIPPEAU e MICHALET-DOREAU, 1998; JURJANZ e MONTEILS, 2005), permitindo assim maior acesso das bactérias ruminais aos grânulos de amido. As zeínas podem potencialmente ser degradadas e/ou solubilizadas no processo ensilagem por atividade proteolítica bacteriana ou solubilização por compostos orgânicos gerados no processo fermentativo. Embora este tipo de proteína seja hidrofóbico e insolúvel em água ou líquido ruminal, é solúvel em ácido lático e ácido acético (LAWTON, 2002). Entretanto estudos específicos a cerca da ação dos produtos finais da fermentação e como estes que influenciam

na degradação da matriz proteica do endosperma do milho são limitados, deixando ainda lacunas referentes ao entendimento deste assunto.

2.1.4 Milho reidratado e ensilado

Os sistemas tradicionais de armazenagem de milho seco é suscetível ao ataque de vários insetos e roedores, o que gera prejuízos em relação a qualidade e quantidade dos grãos com a evolução do tempo de estocagem. De acordo com Lazzari e Lazzari (2001) os insetos mais comuns que atacam o milho seco armazenado são os carunchos (*Sitophilus zeamais*, *Sitophilus oryzae*), os besouros (*Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineous*) e as traças-de-cereais (*Sitotroga cerealella*, *Plodia interpunctella*). Estes insetos não são encontrados na silagem de grãos úmidos por razões de ausência de oxigênio e acidez do meio.

A armazenagem do milho ensilado é um modo de agregar valor e qualidade do produto, além de eliminar as perdas decorrentes dos encargos da armazenagem tercerizada. De acordo com os dados apresentados por Back e Lazzari (2001), o custo que o produtor tem para comercialização do milho em grãos limpo e seco ao entregar o produto sujo e úmido para uma unidade armazenadora é elevado (cerca de 29.55 US\$/t). Segundo estes autores, os descontos podem chegar a 25-30%, isto é, a cada 100 sacas do produto úmido entregue, 25 a 30 sacas são descontadas do produtor, para cobrir custos de secagem, grãos danificados por fungos e insetos, impurezas, impostos e lucros do sistema de armazenagem. Costa et al. (1998) constataram que com a eliminação das etapas de limpeza e secagem, a silagem de grãos úmidos de milho foi 5% mais barata em relação aos grãos secos. Na alimentação de suínos estes custos, segundo Leh (2001), podem chegar a 20 – 25% no custo final da ração. A diferença entre o custo operacional da produção do milho grão seco (57.48 US\$/t) e da silagem de grãos úmidos (US\$ 43.32/t) foi de cerca de 24,6%. No entanto, mesmo considerando-se os investimentos em benfeitorias e máquinas para triturar e armazenagem, a vantagem do milho úmido ensilado, em relação ao grão seco, fica em torno de 6,7% (BACK, 2001).

Entretanto, a confecção da silagem de grão úmido apresenta limitações de ordem climática, de logística, de eficiência de equipamentos e de processamento. A grande extensão

territorial do Brasil submete a cultura do milho a diversas condições pluviométricas. Em algumas regiões a estação do ano em que a cultura do milho atinge o ponto ideal de colheita para realização de silagem de grão úmido pode ser coincidente com o período de chuvas regulares, o que dificulta os processos de colheita, moagem e ensilagem. Outro gargalo refere-se às máquinas convencionais de colheita de grãos, as quais são projetadas para colher com grande eficiência cereais com menores teores umidades. A medida que a umidade do grão aumenta a eficiência de colheita pode diminuir. Adicionalmente, os híbridos modernos tem janela de maturação bastante rápida o que diminui o tempo da janela de corte, aumentando as chances de que o intervalo ideal de colheita (teor de umidade do grão entre 30-40%) seja perdido. A moagem fina dos grãos com alta umidade em geral também é problemática devido a entupimento de peneiras dos trituradores, o que impede moagens finas do material. Uma alternativa às limitações da confecção da silagem de grão úmido em algumas situações, é a técnica conhecida como milho reidratado (PEREIRA, 2011). A reidratação se baseia em devolver aos grãos maduros, secos e moídos umidade entre 30 e 40% da MS, (ANDRADE FILHO et al., 2010), suficiente para que essa massa seja apta a fermentar e conservar-se pelo processo da ensilagem (DEFOOR et al, 2006).

Segundo Hoffman et al., (2011), a ensilagem do grão de milho tem potencial de degradar as proteínas da matriz proteica o que por consequência poderia aumentar a digestibilidade do amido. Enzimas bacterianas são apontadas como responsáveis pela proteólise da matriz proteica que envolve os grânulos de amido (BARON et al., 1986). Amostras de milho úmido ensilados por diferentes períodos (0, 15, 30, 60 120, 240 dias) apresentaram extensiva degradação de todas as subunidades da zeína. Adicionalmente análises realizadas através de microscopia eletrônica no período de 0 e 240 dias de ensilagem, que sugerem um grande número de grânulos de amido de forma isolados no maior período de ensilagem, evidenciando a concreta ação do tempo e da ensilagem sobre a degradação da matriz proteica do endosperma (HOFFMAN et al., 2011). A maior dispersão dos grânulos de amido aumenta a área de adsorção bacteriana além de facilitar o acesso do grânulo de amido, aumentando o potencial de ação das bactérias ruminais. Deste modo é sugerido a ensilagem como um meio eficiente mas que necessita de longos períodos para degradar as barreiras proteicas que envolvem os grânulos de amido e dificultam a digestibilidade do mesmo.

Milhos duros possuem mais endosperma vitreo do que milhos dentados (PHILIPPEAU et al., 1999). A diminuição na degradabilidade do milho foi observada quando a vitreosidade do grão de milho aumentou (PHILIPPEAU e MICHALET-DOUREAU 1997). O aumento da vitreosidade do endosperma pode explicar a diminuição da

digestibilidade do trato digestório total do amido para silagens maduras (BAL et al., 1997; JOHNSON et al., 2002) e pela variação de digestibilidade do amido para processamento da silagem de milho (DHIMAN et al., 2000; JOHNSON et al., 2002). Estes resultados sugerem que a matriz proteica possui potencial para reduzir a digestibilidade do amido e, portanto é uma barreira a ser transposta para aumentar a digestibilidade e o desempenho dos animais.

O método de processamento dos grãos e seu efeito sobre a digestibilidade do amido no trato digestório total de vacas leiteiras em estágio inicial de lactação foi testado através da comparação entre silagem de grão úmido e milho moído fino. As dietas continham 40% de amido com base na matéria seca da dieta. A digestibilidade ruminal do amido da dieta foi de 84% para a silagem de grão úmido e 65% para o milho moído fino e a digestibilidade no trato digestível total foi de 97 e 83% respectivamente (KNOWLTON et al., 1998). Também substituindo milho moído fino por silagem de grão úmido em dietas com dois níveis de amido (21 e 32%) Oba e Allen (2003c) verificaram maior digestibilidade ruminal do amido para a silagem de grão úmido. Entretanto a digestibilidade total não diferiu entre os tratamentos. Em estudo com vacas de alta produção (44 Kg/vaca/dia) com dietas contendo 32% de amido Bradford e Allen (2007a) constataram que a silagem de grão úmido em comparação com milho moído fino melhorou a digestibilidade da matéria orgânica (75,9 vs 78%) e a do amido de 94 para 98% respectivamente. Estes dados sugerem que a silagem de grão úmido pode aumentar a digestibilidade do amido, este fato está atribuído ao efeito de imaturidade do grão a colheita e o efeito da ensilagem sobre a matriz proteica do endosperma.

2.1.5 Cana-de-Açúcar

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com produção estimada na safra de 2011/2012 de 588,9 milhões de toneladas. No Brasil, esta planta destina-se primariamente a produção de açúcar (49%) e etanol (51%) (CONAB), no entanto não há estimativas de dados sobre a quantidade que se destina ao uso na alimentação animal.

Revisões de literatura já discutiram o uso da cana-de-açúcar como alimento para ruminantes (CHAPMAN et al., 1964; VALADARES FILHO., 2008), estes estudos relatam o uso da cana a tanto tempo quanto esta é cultivada como planta domesticada. No Brasil, os primeiros relatos foram descritos por Athanassof (1940) utilizando cana-de açúcar *in natura* em associação com mandioca para vacas leiteiras.

O cultivo da cana-de-açúcar no Brasil recebeu forte incentivo com a implantação do Programa Nacional do Alcool (Pró-Alcool) na década de 1970. Com a implantação deste programa, a cultura da cana-de-açúcar foi propagada para diversas regiões do Brasil o que permitiu o desenvolvimento do cultivo em regiões que até então não possuíam essa tradição. A facilidade de cultivo da cana-de-açúcar fez com que esta fosse adotada como volumoso suplementar para a seca na alimentação de bovinos, uma vez que a cana tem seu ponto de maturação e conseqüentemente melhor valor nutricional coincidente com o período de escassez de pastagens, o que leva esta cultura a ser tida como uma alternativa para a redução dos custos com a alimentação de ruminantes (NUSSIO *et al.*, 2002).

A cana-de-açúcar apresenta alto rendimento de matéria verde (80 a 120 t/ha), baixo custo por quilo de matéria seca (MS), manutenção do valor nutritivo por longos períodos após a maturação e período de colheita coincidente com o período de escassez de forragem nas pastagens. Estes fatores aliados à facilidade de obtenção de mudas e à possibilidade de atingir desempenhos animais razoáveis têm estimulado a utilização da cana-de-açúcar como alimento volumoso para bovinos (SILVA, 1993).

2.1.6 Silagem de Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar colhida diariamente e oferecida fresca aos animais é uma prática tradicional para a alimentação de ruminantes. Entretanto, o corte diário representa uma série de entraves quando se deseja utilizar a cana como forrageira durante todo o ano e em larga escala. A dificuldade de colheita em dias de chuva e à perda no valor nutritivo durante o verão torna a colheita dependente refém da disponibilidade de mão de obra, condições climáticas e aquisição de equipamentos. Além disso, em algumas situações em que ocorre excessiva maturação, o alimento apresenta baixa qualidade.

Uma alternativa ao uso na forma *in natura* é a confecção de silagem. Esta prática permite concentrar a mão de obra, uso de maquinários e diminuir as chances de ocorrência possíveis interferências do clima sobre a cultura. Os primeiros relatos da produção de silagem de cana-de-açúcar para a alimentação de bovinos são datados da década de 1930 nos EUA (KIRK e CROWN, 1942). No entanto o uso de silagem de cana no Brasil é bem mais recente, sendo os primeiros estudos desenvolvidos no final da década de 1990 (ANDRADE *et al.*, 1999).

A ensilagem da cana-de-açúcar permite que áreas maiores sejam colhidas em reduzidos períodos de tempo, o que permite coincidir com o momento em que o material apresenta o ponto mais alto de maturidade e conseqüentemente os maiores teores de açúcar. O ponto de maturação no qual o material atinge maiores teores de açúcar coincide com a estação do ano onde há menor incidência de chuvas e, portanto maior facilidade de confecção (FERREIRA et al., 2007). Os fatores acima citados fazem com que a silagem seja um processo estratégico dentro do sistema produtivo, fazendo com que a silagem seja uma opção mais flexível e padronizada para o uso da cultura da cana-de-açúcar para alimentação de ruminantes.

O processo de ensilagem de uma planta ou grão de cereais pode ser definido como uma técnica de conservação de forragens úmidas por meio de processo fermentativo com conseqüente acidificação do meio através de produção principalmente de ácido láctico e ácido acético por bactérias que atuam sobre açúcares, amido e celulose (HARRIS JR., 2003). O processo de ensilagem é normalmente dividido em cinco fases. O primeiro período corresponde ao final da respiração celular, logo após a colheita e corresponde a fase de maior produção de calor e dióxido de carbono. Nessa fase as bactérias aeróbias estão atuantes e são responsáveis por consumir o oxigênio do ar que não foi expulso de dentro da massa ensilada pela compactação. A segunda fase corresponde a etapa onde o meio é preparado para diminuição do pH e início da fermentação. À medida que o pH decresce, as bactérias produtoras de ácido acético diminuem a atividade, o que dá início a próxima fase. Na fase 3 tem início a produção de ácido láctico. A fase 4 que geralmente começa 3 a 5 após a ensilagem e necessita geralmente de 15 a 20 dias para se completar. Nessa fase há um aumento gradativo do teor de ácido láctico até que o pH chegue próximo aos 3,8 a 4,2 valores estes que são suficientes para cessar a atividade bacteriana. A fase final ou fase 5 corresponde ao período onde a silagem se conserva e se todas as fases foram cumpridas com sucesso o material ensilado apenas permanecerá inerte (HARRIS JR., 2003). O teor de umidade ideal da forragem para que o processo de ensilagem ocorra de forma eficiente deverá estar dentro do intervalo de 30 a 40% de matéria seca no momento da ensilagem (MCGUFFEY e OWENS, 1979).

Para que haja sucesso na ensilagem da cana-de-açúcar é importante que sejam respeitadas as práticas básicas de ensilagem para a maioria das culturas destinadas a esse fim. O teor de matéria seca ao redor dos 30% e tamanho de partícula entre 2 e 5 cm, boa compactação do silo, uso de inoculante (indispensável para a cultura da cana) e fechamento do silo com lona plástica são práticas básicas e indispensáveis para o sucesso da ensilagem.

Para que a massa ensilada atinja pH abaixo de 4,2, estabilidade e seja conservada por longos períodos, quantidades adequadas de carboidratos solúveis são necessárias nas forrageiras, pois é a partir desses carboidratos que todo o processo de fermentação se ocorre. Para que haja a multiplicação das bactérias produtoras de ácidos orgânicos a presença de carboidratos é indispensável, uma vez que na presença deste as bactérias é iniciada a produção de ácido láctico, ácido acético CO_2 e etanol (TOSI et al., 2001). A cana-de-açúcar apresenta elevados teores de carboidratos solúveis e grande população de leveduras epífitas que levam à fermentação alcoólica e produção de CO_2 quando é ensilada pura, causando perdas excessivas de MS, palatabilidade e valor nutritivo da forragem. A rota metabólica predominantemente usada pelas leveduras é a piruvato descarboxilase acetaldeído e a subsequente redução de acetaldeído a etanol (ROOKE e HATFIELD, 2003). Essa rota fermentativa tem como característica elevadas perdas de matéria seca e de energia (MACDONALD et al., 1991). Aditivos químicos e inoculantes biológicos têm sido utilizados com o intuito de melhorar o padrão de fermentação e a conservação das silagens, promovendo o desenvolvimento dos microrganismos benéficos, como as bactérias produtoras de ácido propiônico e a inibição dos indesejáveis, como as leveduras e clostrídios.

Estudo com a ensilagem de cana-de-açúcar relataram redução acentuada de pH (4,2 para 2,9) e redução dos graus brix (13 para 9,0) foi observado quando cana-de-açúcar pura foi ensilada (GONZALES e MACLEOD 1976). Os resultados obtidos por estes autores indicaram produção significativa de ácido acético e etanol na massa ensilada. Segundo Alii et al, (1982) cerca de 50% da sacarose da cana fresca foi consumida por leveduras, para produção de álcool quando a cana foi ensilada pura. Em outro estudo realizado por Silva et al (2008) o teor de carboidratos solúveis foi manipulado para ser decrescente e tentar reduzir com isso a produção de álcool. Os resultados deste estudo sugerem que o teor ideal de carboidratos solúveis com base na matéria seca para a produção nula de etanol seria de 12,4%. Entretanto, geralmente quando a cana é ensilada teores próximos a 40% de carboidratos solúveis estão presentes no material a ser ensilado, o que por consequência provoca grandes produções de etanol.

Em um dos primeiros trabalhos na avaliação de desempenho de gado de corte, James (1973) ao utilizar silagem de cana-de-açúcar observou considerável queda de consumo dos animais quando comparado com cana *in natura*. A queda no consumo voluntário foi atribuída à elevada produção de ácido acético na cana ensilada. Além da produção de ácido acético, os resultados negativos quando a cana-de-açúcar ensilada foi utilizada, também foi atribuída a grande produção de etanol na silagem.

Para que se obtenham resultados positivos com a ensilagem da cana-de-açúcar a escolha de um aditivo é fundamental (NUSSIO e SCHIMIDT 2004). A fermentação por leveduras, característica da fermentação da cana-de-açúcar, além de gerar produção de etanol também gera produção de água, ATP e CO₂. As perdas por produção de gases na ensilagem da cana estão altamente correlacionadas com a produção de etanol (90,3%) e a recuperação de matéria seca (98,3) (PEDROSO *et al.*, 2005).

A cana-de-açúcar ensilada sem aditivos apresenta fermentações alcoólicas e perda do valor nutritivo (PRESTON *et al.* 1976). Estes autores verificaram redução de, aproximadamente, 30% no conteúdo total dos açúcares para a cana ensilada em relação à cana fresca, e teor alcoólico de 5,5% na MS da silagem. Nos primeiros 15 dias de ensilagem ocorre intenso consumo de carboidratos, sendo que 85% destes carboidratos são transformados em etanol. Neste mesmo estudo observou-se que a concentração de etanol inversamente correlacionada com o teor de carboidratos residuais ($r=-0,86$) e com a digestibilidade da silagem ($r=0,87$), o que indica que a produção de etanol consumiu açúcares da silagem, causando diminuição do seu valor nutritivo. Estudos desenvolvidos no Brasil descreveram produção excessiva de etanol e perda de valor nutritivo das silagens de cana-de-açúcar. Bernardes *et al.* (2002) constataram teor de 6,87% de etanol na MS da silagem, para cana-de-açúcar ensilada aos 12 meses de crescimento. A produção de etanol, em detrimento do valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar é a principal dificuldade apresentada por essa técnica e o maior desafio da pesquisa, na busca por processos específicos que controlem adequadamente a população e a atividade de leveduras, sem prejuízo da qualidade da silagem e do desempenho animal (NUSSIO *et al.*, 2003).

2.1.7 Desempenho Animal

O desempenho de novilhas alimentadas com dietas contendo silagem de cana-de-açúcar foi estudado por Pedroso (2003). Este autor observou menor desempenho dos novilhas quando comparado ao daqueles alimentadas com cana-de-açúcar fresca como volumoso exclusivo. Na literatura são encontrados valores de ganho de peso diário de até 1,81 kg, para animais alimentados com ração contendo 48% da MS na forma de cana-de-açúcar fresca (HERNANDEZ, 1998). Pedroso (2003) observou que os animais alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar inoculadas com *Lactobacillus buchneri* e

benzoato de sódio apresentaram tendência de melhor conversão alimentar em relação aos alimentados com a ração controle sem aditivo. A utilização dos aditivos *Lactobacillus buchneri* e benzoato de sódio tem propiciado melhores índices de ganho de peso; pois ambos os aditivos apresentam valores de estabilidade aeróbia próximos de 80 horas, resultando em menor perda do material ensilado até o momento do consumo pelo animal.

Estudos sobre desempenho de vacas leiteiras alimentadas com silagem de cana-de-açúcar são encontrados na literatura científica relatam resultados variados (HARRIS JR et al., 1983; VALVASORI et al., 1998; SUKSOMBAT; JUNPANICHCHAROEN, 2005; QUEIROZ et al., 2008; NEVES NETO, 2009; PEDROSO et al., 2010; SANTOS et al., 2011). Os estudos sobre silagem de cana descreveram variação de produção de leite de 9,34 a 30,9 kg/dia, com média de 16,4 kg/dia. Foi observada redução na produção de leite, quando a silagem de cana-de-açúcar foi comparada com outros volumosos (HARRIS JR et al., 1983; VALVASORI et al., 1998; PEDROSO et al., 2010; SANTOS et al., 2011). Os demais ESTUDOS não constataram diferenças na produção de leite quando a silagem de cana-de-açúcar foi comparada com silagem de gramínea e cana *in natura* (SUKSOMBAT; JUNPANICHCHAROEN, 2005) e silagem de milho e cana *in natura* (QUEIROZ et al., 2008). Quando avaliado o consumo de matéria seca, os resultados também são contraditórios, pois há relatos de aumento do consumo quando vacas da raça Holandesa foram alimentadas com silagem de cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho (QUEIROZ et al., 2008). Costa et al. (2005) relataram a possibilidade de produções de leite próximas a faixa de 20 a 25 kg/vaca/dia quando utilizamos cana-de-açúcar *in natura* na proporção volumoso concentrado 40:60. Esses dados indicam que, feitas às devidas correções dietéticas, o uso de silagem de cana-de-açúcar pode suportar níveis de produção na mesma faixa que cana *in natura*.

3 CAPITULO II

3.1 Efeito do tempo de ensilagem sobre a degradabilidade da MS em MRE

Resumo

Efeito do tempo de ensilagem do grão de milho moído e reidratado sobre a composição da silagem e degradabilidade ruminal *in situ*.

O objetivo do presente estudo foi determinar os efeitos do tempo de ensilagem sobre as alterações da composição química e da degradabilidade da MS do grão de milho. Para investigar o efeito do tempo de ensilagem do MRE, foram reidratadas e ensiladas 22 amostras de grão de milho moído (2mm) com 67% (± 3) de endosperma vítreo com densidade correspondente a 880kg/m³ e MS a 660 g/Kg MS por um período total de 330 dias. Foram coletadas amostras (n=2) mensais para avaliação de pH, MS, amido, PB, N-NH₃, propionato, acetato, butirato, lactato e álcool. Adicionalmente, 10 g da amostra coletada foram submetidas a ensaio de degradabilidade por 0, 1,5, 3, 6, 12, 24 e 48 horas utilizando dois novilhos da raça nelore portadores de cânulas ruminais. Não houve efeito do tempo de ensilagem sobre o teor de MS e PB do MRE. O pH e a concentração de amido foram reduzidos ao longo do período de ensilagem. A concentração de amido da silagem do MRE foi 2,4 g/100g MS menor aos 330 dias em relação ao início da ensilagem. As concentrações de N- NH₃, ácido acético, ácido propionico, ácido butirico e álcool aumentaram ao longo do período de ensilagem. O percentual de fração rapidamente degradável (fração A) da MS foi aumentado ao longo do tempo de ensilagem. De modo contrário, a fração lentamente degradável (fração B) da MS do MRE diminuiu com a evolução do tempo de ensilagem. A taxa de degradação da fração lentamente degradável (fração C) e a degradabilidade potencial (Dp) da MS do MRE foram aumentada ao longo do tempo de ensilagem. A degradabilidade da MS do milho também aumentou de acordo com o tempo de ensilagem quando os dados foram ajustados para as taxas de passagem correspondentes a 2, 5 e 8%/h. A degradabilidade ruminal do MRE foi aumentada ao longo do período de ensilagem.

Palavras-chave: *In situ*. Degradabilidade. Matriz proteica. Ensilagem. Milho.

Abstract

Effect of hydration and time of ensiling of corn grain on in situ degradability of corn grain.

The aim of this study was to determine the effects of time of ensiling on the changes of the chemical composition and degradability of DM of corn grain. To investigate the effect of time of ensiling MRE were rehydrated and 22 samples of ensiled corn grain (2mm) with 67% (\pm 3) vitreous endosperm density corresponding to the MS 880kg/m³ and 660g/kg DM periódototal for 330 days. Samples (n = 2) were collected monthly to assess pH, DM, starch, CP, NH³-N, propionate, acetate, butyrate, lactate and ethanol. Additionally, 10 g of the samples were assayed degradability by 0, 1.5, 3, 6, 12, 24 and 48 hours using two Nelore steers cannulated. There was no effect of time of ensiling on the content of DM and CP of the MRE. The pH and starch concentration were reduced over the period of ensiling. The starch content of the silage was 2.4 g/100g MRE lower at 330 days MS relative to the start of the silage. The concentrations of NH₃-N, acetic acid, propionic acid, butyric acid and alcohol increased over time of ensiling. The percentage of rapidly degradable fraction (fraction A) of DM was increased over time of ensiling. Conversely, the slowly degradable fraction (fraction B) DM MRE decreased with time evolution silage. The rate of degradation of the slowly degradable fraction (fraction C) and the degradability (Dp) of DM MRE were increased over time of ensiling. The DM degradability of maize also increased with time of ensiling when the data were adjusted for exchange correspondesntes passage 2, 5 and 8 %/h. The degradability of the MRE was increased throughout the period of ensiling.

Keywords: In situ. Degradability. Protein matrix. Silage. Corn.

3.2 Introdução

O milho é uma das principais culturas para a alimentação animal, tanto para uso do grão em rações como uso da planta inteira para silagens. O amido, principal componente do grão de milho, é a mais importante fonte de energia para vacas leiteiras de alta e média produção (OBA; ALLEN 2003). Segundo Firkins et al. (2001), a digestibilidade do amido do grão do milho para vacas leiteiras pode variar com: o método de conservação (úmido ou seco), processamento (moído, trincado, laminado ou floculado), tamanho de partícula (moído fino, laminado ou quebrado) e no tipo de endosperma (PHILIPPEAU, 2000; CORREA et al., 2002; NGONYAMO-MAJEE et al., 2008).

Variedades de milho com grãos com endosperma predominantemente vítreos tem degradabilidade em *in situ* e digestibilidade *in vivo* reduzidas (THEURER et al., 1999; CORREA et al., 2002; NGONYAMO-MAJEE et al., 2008). A denominação vítrea ou opaca refere-se ao aspecto dos endospermas nos grãos quando sujeitos à luz. No endosperma opaco, os espaços vagos permitem a passagem da luz, conferindo opacidade ao material. A ausência de espaços entre os grânulos de amido e a matriz proteica promove a reflexão da luz e resulta em aspecto vítreo do endosperma. As proteínas do endosperma que são responsáveis pelas características de opacidade ou vitreosidade são majoritariamente representadas pelas prolaminas, que no grão de milho recebem a denominação de zeína. Esta proteína é a principal responsável por reduzir a ação bacteriana e enzimática ao grânulo de amido (OWENS et al., 1986).

A zeína apresenta características hidrofóbicas e insolúveis em água e corresponde a cerca de 50 a 60% das proteínas do endosperma (HAMAKER et al., 1995). A rede de subunidades da zeína que recobre o grânulo de amido e é apontado como causa do decréscimo da digestibilidade do amido do milho (NGONYAMO-MAJEE et al., 2008; HOFFMAN et al., 2011). A degradação ruminal *in situ* do amido foi menor em variedades de milho com maiores teores de amido vítreo em relação a variedades de milho com endosperma predominantemente opaco ou farináceo (NGONYAMO-MAJEE et al., 2008a). A digestibilidade ruminal e intestinal do amido em vacas leiteiras, foi maior para grãos de milho oriundos de cultivares com endosperma farináceo (3% do amido vítreo) em relação variedade/cultivares com endosperma com maior vitreosidade (67% do amido vítreo) (TAYLOR; ALLEN 2005a).

De acordo com Benton (2005), a degradabilidade ruminal do MRE foi relatado como maior ao longo do tempo de ensilagem para a MS e PB do milho sendo que o aumento da degradabilidade do MRE foi mais acelerado nos primeiros 28 dias de ensilagem. O aumento da degradabilidade do MRE ao longo do período de ensilagem tem sua explicação sugerida pelo efeito que o processo de fermentação causa nodesaparecimento da zeína (HOFFMAM et al., 2011). Resultados similares ao descritos por Benton, (2005), em relação ao aumento na digestibilidade do amido de silagem ao longo do tempo de ensilagem, foram observados em outro estudo conduzido por Hallada (2009), no qual foi avaliado o efeito do tempo de ensilagem de milho planta inteira sobre a digestibilidade *in vitro*. O tempo de ensilagem aumentou a digestibilidade do amido de acordo com o período de ensilagem. Entretanto, o efeito do tempo e da ensilagem sobre grãos de milho colhidos com maturidade completa, moídos e reidratados ainda não foi determinado.

A hipótese do presente estudo é que a degradabilidade ruminal do MRE pode ser aumentada de forma progressiva ao longo do período de ensilagem. Para tanto, o objetivo do presente estudo foi determinar a influência do tempo de ensilagem sobre a degradabilidade ruminal *in situ* da MS do MRE de média vitreosidade colhido maduro.

3.3 Materiais e Métodos

3.3.1 Animais, dietas, instalações

Dois machos castrados da raça Nelore, com peso vivo médio de 450 (± 20) kg, portadores de cânulas ruminais foram alojados em uma baia coletiva provida de cocho e bebedouro automático e adaptados a dieta (Tabela 1) por 11 dias. A dieta foi fornecida às 7 e às 16 horas e foi composta por silagem de cana-de-açúcar, uréia, suplemento mineral, MSM e MRE na proporção volumoso:concentrado de 46:54. Foram coletadas amostras diárias da dieta durante o período experimental para análises bromatológicas de MS (AOAC, 1990; método 934.01), PB (AOAC, 1990; método 988.05), extrato etéreo (AOAC, 1990; método 920.39), cinzas (AOAC, 1990; método 942.05). Concentrações de FDN e FDA foram determinadas de acordo com Van Soest et al. (1991), com uso de amilase termoestável mas sem sulfato de sódio. A lignina foi determinada segundo Silva e Queiroz (2003). O amido foi

determinado segundo método de Rossi Júnior e Pereira (1995), procedendo-se a extração prévia dos carboidratos solúveis segundo Hendrix (1993).

Tabela 1- Proporção de ingredientes e composição química com base na matéria seca

Ingredientes	
	<i>g/ Kg MS</i>
Silagem de cana-de-açúcar	460,3
MRE ¹	338,3
Farelo de soja	167,2
Ureia	6,8
Bicarbonato de sódio	7,7
Fosfato Bicálcico	3
Cloreto de sódio	1,3
Mistura mineral ²	15,4
	100
<i>Composição Química g/ Kg MS</i>	
Matéria Seca	354,2
Matéria Orgânica	958
Matéria Mineral	42
Proteína Bruta	150,9
Amido	250,1
Extrato Etereo	21,0
FDN ³	372,4
FDA ⁴	223,
Liginina	34,1
NDT ⁵	680,2

MRE- Milho Reidratado e Ensilado; 3- Fibra em detergente neutro; 4- Fibra em detergente ácido; 5- Nutrientes digestíveis totais. 2 Mineral mixture composition per kg: 180g Ca, 90g P, 20g Mg, 20g S, 100g Na, 3000mg Zn, 1000mg Cu, 1250mg Mn, 2000mg Fe, 200mg Co, 90mg I, 36mg Se, 900mg F (maximum).

3.3.2 Reidratação e ensilagem do milho.

Os grãos de milho utilizados foram obtidos a partir do estoque de grão sem especificação do tipo de cultivar de milho. No momento da moagem, amostras de milho (grão

integral) foram coletadas para análise da umidade e vitreosidade do lote de grãos a ser processado, as quais apresentaram valores médios de 870 g/kg de MS e 67% de vitreosidade (DOMBRINK-KURTZMAN; BIETZ, 1993). Os grãos foram moídos em moinho de martelo com peneira de porosidade de 2 mm, sendo posteriormente submetido a reidratação com 300 litro de água acrescida de inoculante bacteriano (*Lactobacillus bruchneri* cepa CNCM I-4323 Katec Lellamand®), segundo recomendação do fabricante, para cada tonelada de milho. A mistura do milho moído com a água foi realizada em vagão misturador (UNIMIX 1200® Casalle) por 10 minutos. O cálculo utilizado para a quantidade de adição de água foi:
$$\frac{((\text{umidade do grão} * \text{Kg milho a ensilar})/100 + (\text{litros d'água})) * 100}{(\text{peso do milho a ensilar} + \text{litros de água adicionado})}$$
. Estas amostras foram ensiladas em tubos de PVC e compactadas para que alcançassem a densidade de 880 kg/m³. A cada 30 dias 2 silos experimentais foram congelados a temperatura de -20°C para interromper a fermentação. Após o período de 330 dias, todas as amostras foram descongeladas e submetidas à mensuração de pH de acordo com Cherney e Cherney (2003). Amostras de silagem foram submetidas a prensa hidráulica para mensuração da concentração de N-NH₃ e ácido láctico por meio de espectrofotometria com kit comercial (Bioclin®). Para determinação das concentrações dos AGCC (butirato, propionato, acetato e álcool) foi coletada uma amostra de 2,0 mL suco de silagem e centrifugado por 15 minutos. Em seguida, 1 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio contendo 0,2 mL de ácido fórmico P.A, sendo armazenado a -20°C até o momento da análise. A concentração dos AGCC foi determinada por cromatografia gasosa, segundo Erwin et al. (1961).

3.3.3 Ensaio de Degradabilidade in situ

O ensaio de degradabilidade *in situ* foi realizado segundo metodologia Mehres e Ørskov (1977), na qual foram utilizados sacos de náilon, com porosidade de 50 micras, medindo 10,0 x 19,0cm (Forrage Bag® Ankon, Macedon, New York) com conteúdo de aproximadamente 10 g de amostras do MRE, oriundos dos diferentes períodos de ensilagem (3, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 e 330 dias), previamente secadas em estufa a 65°C por 72 horas. As amostras foram pesadas em balança de precisão e após amarradas foram posteriormente incubadas. Os sacos foram incubados em animais previamente adaptados e portadores de fístulas ruminais durante 0, 1.5, 3, 6, 12, 24 e 48 horas. Após a retirada do rúmen os sacos foram lavados em água corrente até a água de lavagem fluir incolor, sendo

levados à estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, para posterior pesagem. A degradabilidade em tempo zero foi considerada mergulhando-se os sacos em recipiente contendo água à temperatura de 39°C durante 15 minutos (CUMMINS et al., 1983). Os dados de degradabilidade sofreram ajuste pelo modelo de Ørskov e McDonald (1979). A degradabilidade potencial (Dp) e a degradabilidade efetiva (De) foram calculadas pela fórmula de Ørskov et al. (1980). As amostras de silagem pós-incubação foram submetidas a análise de MS (AOAC, 1990; método 934.01).

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2002), após verificação da normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. Os polinômios ortogonais foram obtidos com a utilização do Proc-IML (10 GL), pois os tratamentos não eram espaçados de forma aritmética. Os dados com a distribuição normal foram submetidos a ANOVA de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-GLM do SAS (2002), adotando-se nível de significância $\leq 0,05$, de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$, em que Y_{ij} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito de tempo i , E_{ij} = erro aleatório associado a cada observação. Os efeitos de tratamento foram decomposto em três contrastes polinomiais ortogonais (linear, quadrático e cúbico). As equações foram obtidas pelo Proc-REG de acordo com o modelo significativo mais complexo.

3.4 Resultados

A composição do MRE ao longo do tempo de ensilagem foi determinada para avaliar como o tempo afeta os principais compostos do MRE. Houve efeito do tempo de ensilagem do MRE sobre o teor de amido e N-NH₃ (% da PB), pH, concentração de ácido lático, acético, propionico, butirico e álcool, no entanto as concentrações de MS e PB não foram afetados pelo tempo de ensilagem (Tabela 2).

Tabela 2- Efeito do tempo de ensilagem sobre a composição do milho reidratado e ensilado (MRE) expressos com base na MS.

	MS	Amido ¹	N-NH ₃ ^{2*}	PB	pH ³	Lactato ⁴	C2 ⁵	C3 ⁶	C4 ⁷	Alcool ⁸
Tempo de ensilagem (TE)										
3	33,95	69,43	0,2	8,28	5,25	0,48	0,113	0,011	0,00033	0,214
30	33,6	69,45	4,15	8,7	3,83	1,16	0,269	0,021	0,00064	0,471
60	34,55	68,94	5,97	8,08	3,76	1,34	0,322	0,025	0,00073	0,685
90	34,39	68,82	8,56	8,34	3,75	1,29	0,326	0,025	0,00074	0,679
120	33,82	68,7	9,03	8,81	3,78	1,36	0,341	0,024	0,00083	0,778
150	33,51	68,51	9,01	8,61	3,73	1,28	0,41	0,022	0,00087	0,735
180	33,15	68,26	8,83	8,47	3,8	1,32	0,402	0,021	0,0009	0,72
210	34,18	67,93	8,64	8,62	3,77	1,33	0,424	0,0214	0,00091	0,719
240	34,26	67,17	7,84	8,34	3,71	1,37	0,435	0,0211	0,00096	0,72
330	34,81	67,03	8,76	8,51	3,72	1,66	0,466	0,0201	0,00094	0,746
Média	34,02	68,42	7,1	8,47	3,91	1,26	0,351	0,021	0,00078	0,64
EPM	0,16	0,18	0,63	0,07	0,1	0,06	0,02	0,0009	0,00004	0,03
L	0,4	<0,0001	<0,0001	0,61	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0005	<0,0001	<0,0001
Q	0,21	0,87	<0,0001	0,54	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
C	0,43	0,17	<0,0001	0,83	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

*N- NH₃ expresso em percentual da PB do milho. MS: matéria seca. L: linear. Q: quadrático. C: cúbico. EPM= Erro Padrão da Média. **1:** 69,43-0,01190*TE. R²: 0,86. **2:** -0,1832+0,157*TE-0,00083*TE² + 1,32E-6*TE³. R²: 0,98. **3:** 4,98-0,02633*TE + 0,000154* TE² - 2,62537E-7*TE³ R²: 0,75. **4:** 0,5851 + 0,0161*TE - 0,000098*TE² + 1,816E-7*TE³. R²: 0,88. **5:** 0,13499+0,00351*TE - 0,000015*TE² +2,2950E-8*TE³. R²: 0,94. **6:** 0,01236+0,000288*TE - 0,00000183*TE² + 3,131E-9*TE³. R²: 0,88. **7:** 0,000373 + 0,0000069*TE - 2,989E-8*TE² + 4,265E-11*TE³. R²: 0,94. **8:** 0,2116 + 0,0975*TE - 0,000053*TE² + 8,738E-8* TE³. R²: 0,96

Foi observada redução linear do teor de amido do MRE em função do tempo de ensilagem. (figura 3). O MRE armazenado por 330 dias sofreu uma redução linear no teor de amido correspondente a 2,4 pontos percentuais para o menor que o ensilado por 3 dias. O desaparecimento mais acentuado de parte do amido da massa ensilada foi observado a partir dos 30 dias e pode ser predita pela equação $y = 69,56 - 0,0081 * TE$ no qual TE é o tempo de ensilagem. O pH da silagem apresentou comportamento cúbico com redução do valor após a ensilagem, sendo observados valores menores que 4,0 após o 30º dia de ensilagem com comportamento que pode ser predito de acordo com a equação $y = 4,98 - 0,02633 * TE + 0,000154 * TE^2 - 2,62537E-7 * TE^3$. O teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em relação ao teor total de nitrogênio (PB) da silagem apresentou comportamento cúbico crescente de acordo com a equação $y = -0,1832 + 0,157 * TE - 0,00083 * TE^2 + 1,32E-6 * TE^3$, sendo observados concentração 8,5 vezes maior aos 330 dias de ensilagem em relação aos 3 dias de ensilagem.

A concentração de ácido láctico (Figura 4) com base na MS foi aumentada cerca de 3,45 vezes no período de ensilagem correspondente a 330 dias em relação ao período de 3 dias de ensilagem. A produção de ácido láctico na massa ensilada apresentou comportamento cúbico descrito pela equação $y = 0,5851 + 0,0161 * TE - 0,000098 * TE^2 + 1,816E-7 * TE^3$. A produção de ácido acético (Figura 4) desenvolveu uma resposta cúbica ao longo do período de ensilagem, de acordo com a equação: $0,13499 + 0,00351 * TE - 0,000015 * TE^2 + 2,2950E-8 * TE^3$. Os resultados da produção de acetato indicaram aumento na concentração em 4.1 vezes aos 330 dias em relação ao período de 3 dias de ensilagem. A concentração de propionato também foi aumentada ao longo do tempo de ensilagem, a elevação da concentração de ácido propiônico na MS do MRE apresentou comportamento cúbico de acordo com a predição da equação: $y = 0,01236 + 0,000288 * TE - 0,00000183 * TE^2 + 3,131E-9 * TE^3$. A concentração de ácido propiônico foi elevada em 1.7 vezes no 330º dia em relação ao MRE ensilado por 3 dias. O ácido butírico assim como os demais AGCCs também apresentaram comportamento cúbico de acordo $(y = 0,000373 + 0,0000069 * TE - 2,989E-8 * TE^2 + 4,265E-11 * TE^3)$. A concentração do butirato foi elevado 2.8 vezes no final do período de 330 dias em relação a concentração deste no início do estudo. A concentração de álcool na MS da silagem também se elevou de forma cúbica $(y = 0,2116 + 0,0975 * TE - 0,000053 * TE^2 + 8,738E-8 * TE^3)$ de acordo com o tempo de ensilagem, sendo que aos 330 dias de ensilagem apresentou uma concentração 2.4 vezes maior do que aos 3 dias de ensilagem.

Figura 3 - Efeito do tempo de ensilagem sobre a concentração de amido (a), pH (b) e N-NH₃ (c) no milho reidratado e ensilado (MRE)

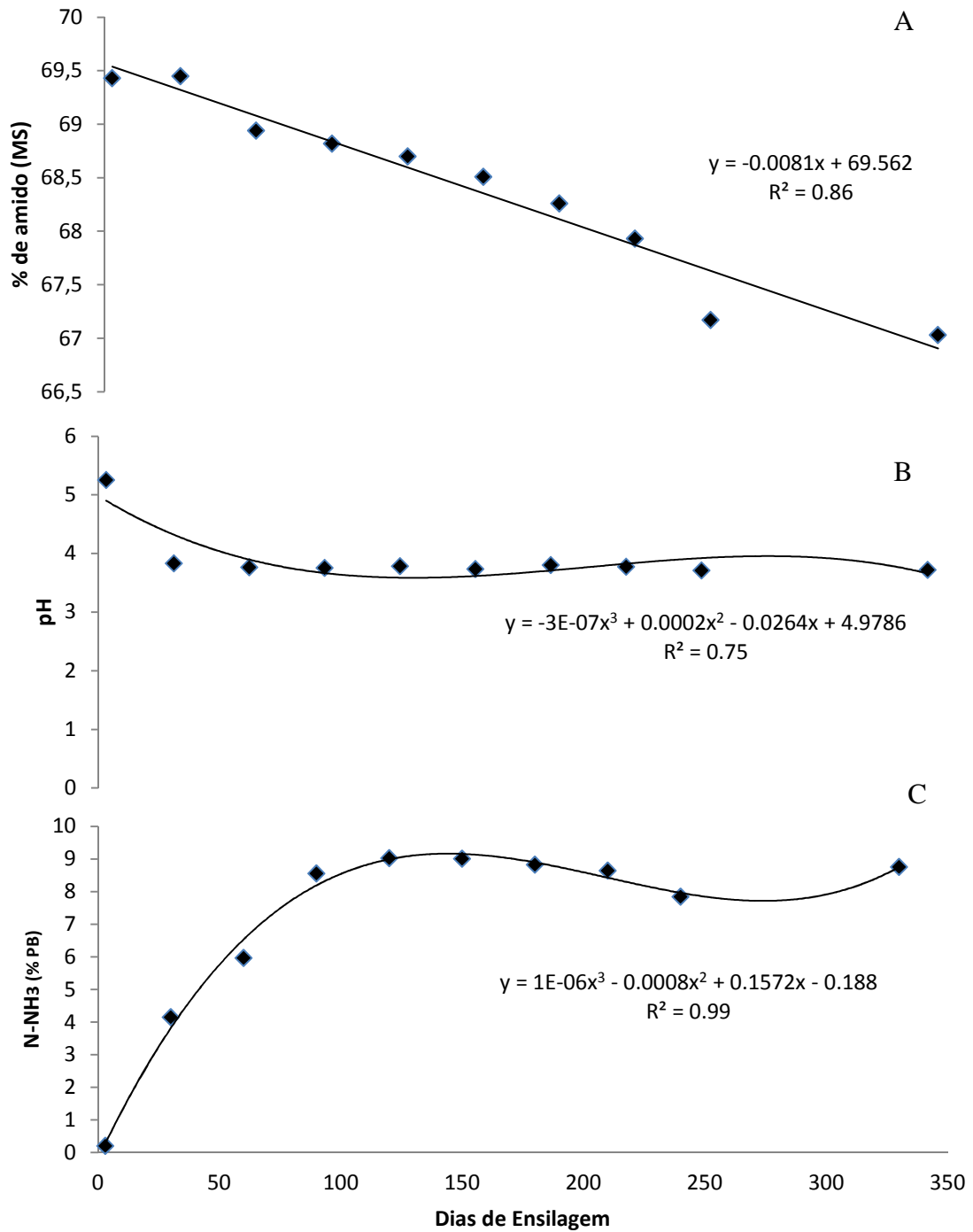
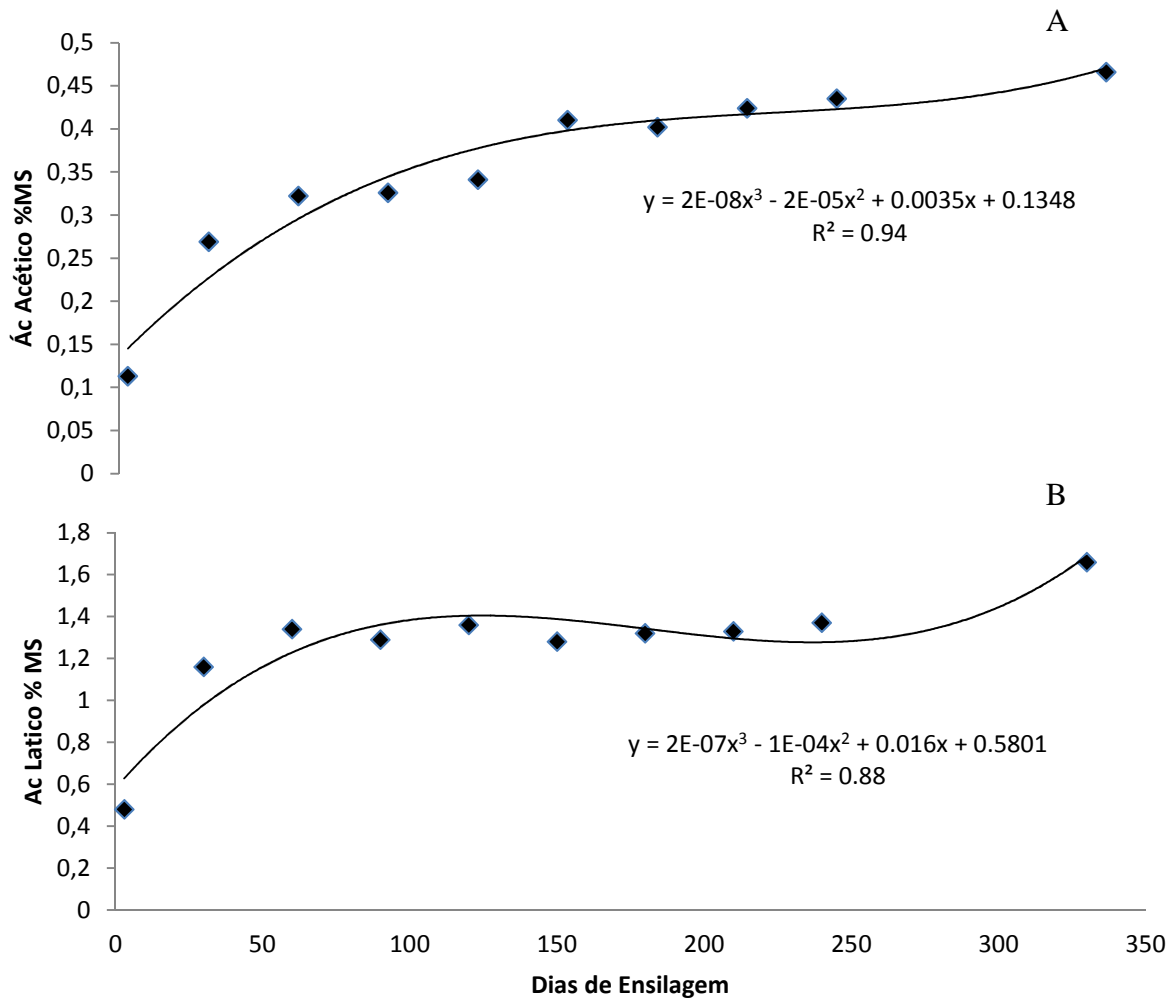


Figura 4 - Efeito de tempo de ensilagem sobre a concentração de ácido acético (A) e ácido láctico (B) no milho reidratado e ensilado (MRE)



Os resultados de degradabilidade ruminal foram provenientes de incubação *in situ* das amostras do MRE em animais portadores de cânulas ruminais e submetidos a modelagem matemática. Houve efeito do tempo de ensilagem sobre o percentual das frações degradáveis (A e B), sobre a taxa de degradação da fração B (fração C) e da degradabilidade potencial (Dp) da MS do MRE. Efeito do tempo de ensilagem também foi observado quando os dados foram ajustados para as taxas de passagem a 0,02; 0,05 e 0,08/h (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias ajustadas de degradabilidade ruminal da MS do MRE em relação ao tempo de ensilagem

Tempo de ensilagem	Degradabilidade % MS						
	A ¹	B ²	C* ³	Dp ⁴	De2 ⁵	De5 ⁶	De8 ⁷
3	17,83	78,54	0,082	96,38	81	66,67	57,64
30	19,9	76,92	0,094	96,83	83,39	70,21	61,56
60	22,39	73,17	0,122	95,56	85,3	74,36	66,67
90	22,52	74,15	0,125	96,68	86,45	75,5	67,75
120	28,71	68,21	0,123	96,93	87,42	77,26	70,1
150	32,36	62,37	0,182	94,73	88,57	81,32	75,73
180	34,91	60,37	0,174	95,29	89,07	81,82	76,29
210	36,43	60,17	0,185	96,6	90,71	83,76	78,39
240	38,14	58,93	0,188	97,07	91,4	84,69	79,48
330	54,3	42,96	0,199	97,27	93,35	88,66	84,98
Media	29,89	66,39	0,14	96,28	87,08	77,45	70,7
EPM ⁸	2,25	2,21	0,009	0,17	0,84	1,51	1,87
Linear	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0037	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Quadrático	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0005	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Cúbico	0,0012	0,0470	<0,0001	0,1480	<0,0001	<0,0001	<0,0001

* Taxa de degradação da fração B (%/hora); 1-Fração rapidamente degradável ($5,65E-07x^3 - 0,00015x^2 + 0,1008x + 16,98$); 2- Fração lentamente degradável ($-6E-0,7x^3 + 0,0002x^2 - 0,1124x + 79,695$); 3- Taxa de degradação da fração B; ($-3E-09x^3 + 7E-07x^2 + 0,0005x + 0,0805$) 4-Degradabilidade potencial ($4E-0,5x^2 - 0,0099x + 96,647$); 5-Degradabilidade efetiva para taxas de passagem a 0.02/h ($2,81E-0,9x^3 - 0,000209x^2 + 0,0758x + 81,073$); Degradabilidade efetiva para taxas de passagem 0.05/h ($4E-07x^3 - 0,0003x^2 + 0,1328x + 66,493$); Degradabilidade efetiva para taxas de passagem 0.08/h ($4E-07x^3 - 0,000345x^2 + 0,154x + 57,31$); 8- Erro Padrão da Média.

Foi observado aumento da fração “A”, (fração rapidamente degradável no rúmen), e redução da fração “B” (fração lentamente degradável) de acordo com o tempo de ensilagem. O aumento da porção de MS rapidamente degradável foi acompanhado pela queda da quantidade de MS lentamente degradável. Além disso, a taxa de degradação da fração B também aumentou em relação ao tempo de ensilagem, sugerindo capacidade da ensilagem para aumentar a velocidade de degradação da fração B.

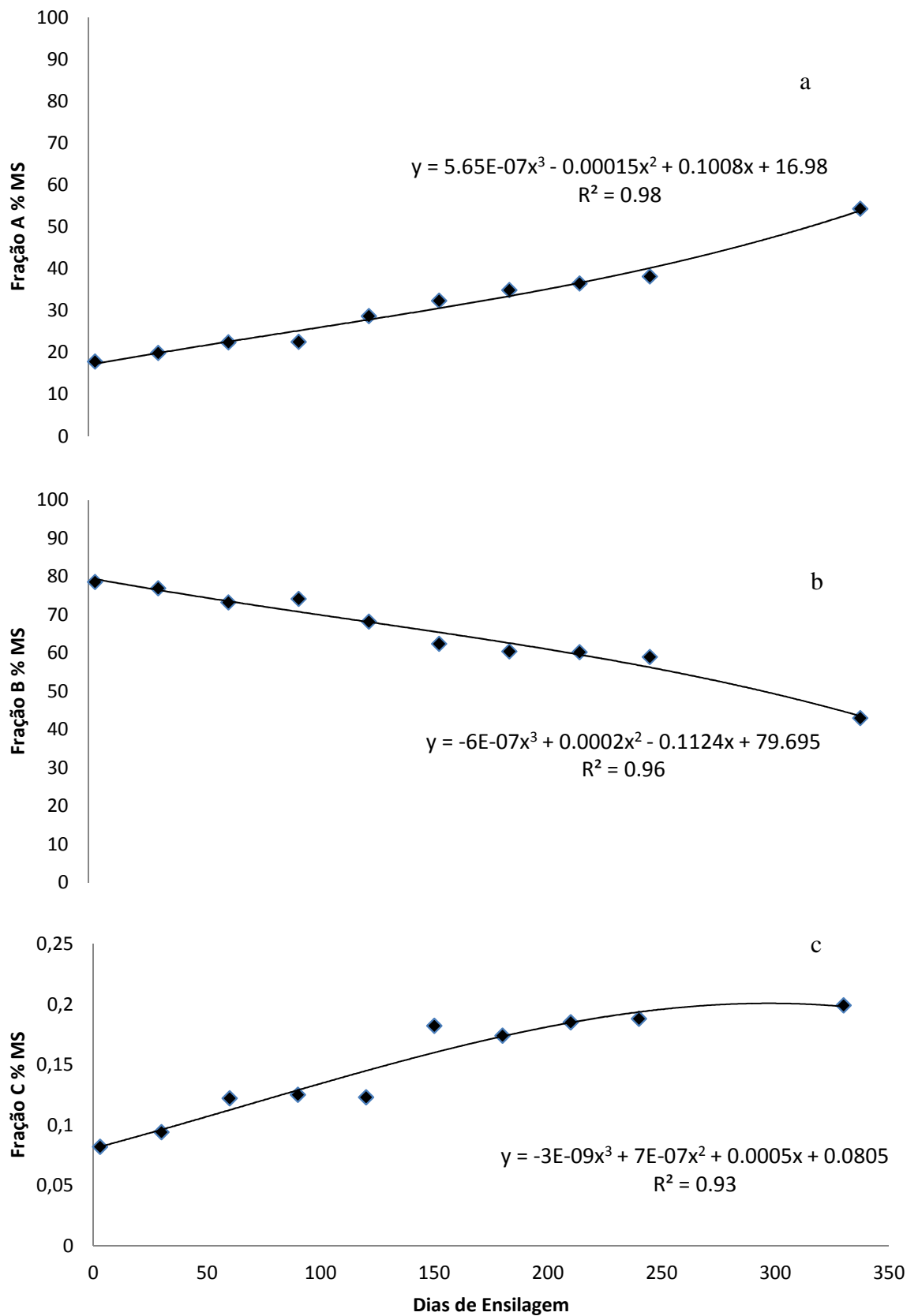
A fração rapidamente degradável da MS do milho foi aumentadas de forma cúbica quanto maior foi o período de ensilagem (Figura 5a), podendo ser descritas de acordo com a equação $5,65E-07x^3 - 0,00015x^2 + 0,1008x + 16,98$. O percentual de MS do MRE com comportamento de fração A alcançou seu maior valor no período de 330 dias de ensilagem e foi cerca de 3 vezes maior do que o MRE ensilado por 3 dias.

A fração lentamente degradável, ou fração B, apresentou redução em sua quantidade ao longo do tempo de ensilagem com comportamento cúbico de acordo com a equação $y = -6E-0,7x^3 + 0,0002x^2 - 0,1124x + 79,695$. A fração B (Figura 5b) foi reduzida em 35 pontos percentuais quando o milho foi ensilado por 330 dias em comparação ao milho que foi ensilado por 3 dias. O efeito do tempo de ensilagem MRE fica armazenado sob forma de silagem sugere que parte da fração lentamente degradável foi convertida a fração "A".

A fração "C" representa a taxa de degradação da fração "B". O avanço no tempo de ensilagem do MRE elevou a taxa de degradação da fração B de forma cúbica ($y = -3E-09x^3 + 7E-07x^2 + 0,0005x + 0,0805$) (Figura 5c). A velocidade de degradação da fração lentamente degradável foi aumentada aproximadamente 12 pontos percentuais para o período de 330 dias em relação ao controle. O aumento na taxa de degradação tornou a fração B da MS do milho mais rapidamente degradável com o aumento tempo de ensilagem.

A degradabilidade potencial da MS representa a quantidade que realmente pode ser degradada e portanto a fração da MS que é possível de ser aproveitada pelo animal. O aumento no período de ensilagem do MRE elevou de forma quadrática a degradabilidade potencial do MRE ($y = 4E-0,5x^2 - 0,0099x + 96,647$). Aos 330 dias houve aumento de 89 g/Kg MS de degradabilidade do MRE em relação a 3 dias de ensilagem.

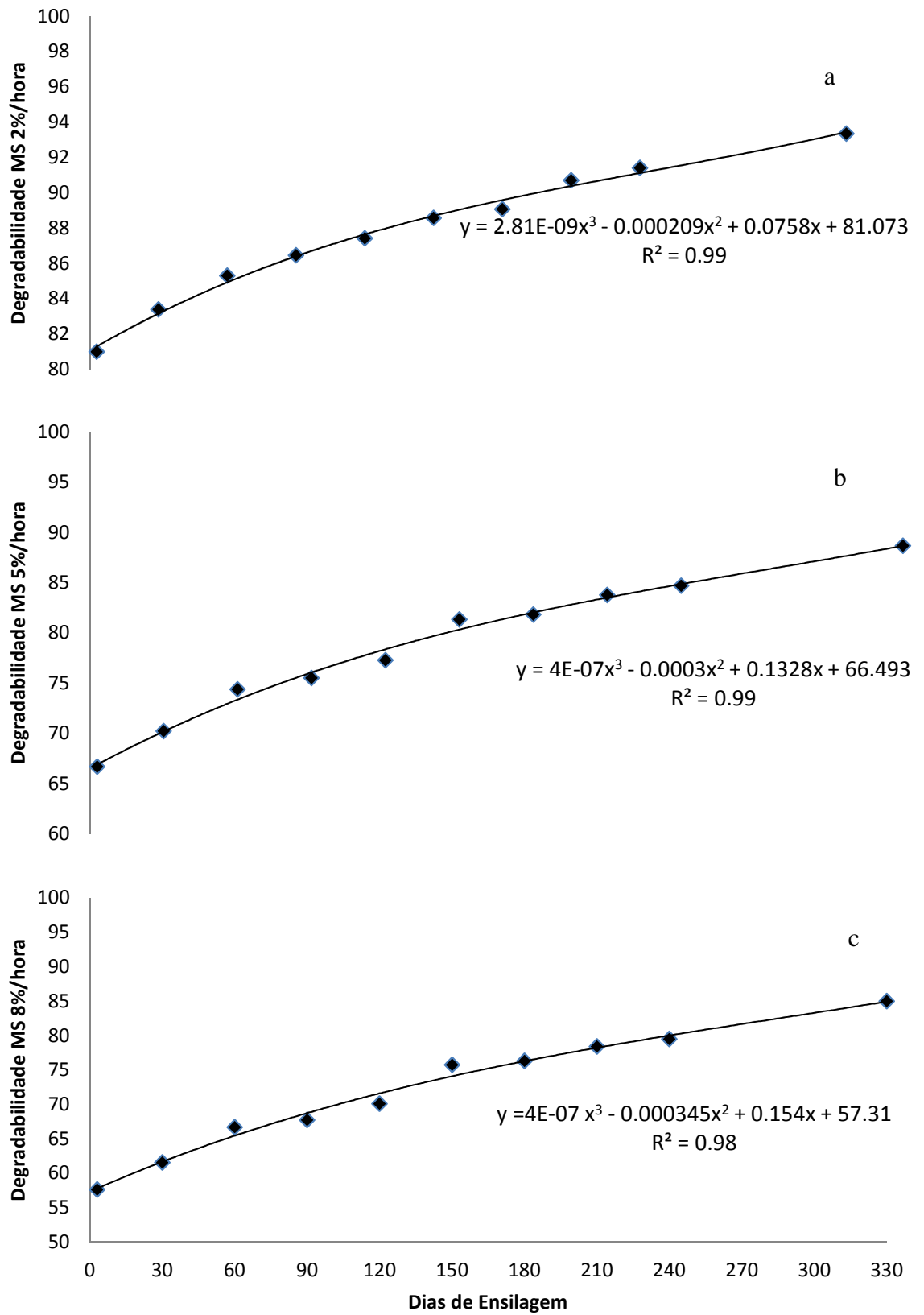
Figura 5 - Efeito do tempo de ensilagem sobre a fração A (a), B (b) e C(c) da MS do milho reidratado e ensilado (MRE)



As taxas de passagem da dieta pelo rúmem são características que representam animais de diferentes potenciais produtivos ou diferentes dietas. Quanto maior a taxa de passagem maior é a ingestão de MS e possivelmente maior a produtividade do animal sendo menor a degradabilidade ruminal da MS da dieta. Os resultados de degradabilidade do presente estudo foram ajustados para três diferentes taxas de passagem da dieta pelo ambiente ruminal a 2, 5 e 8%/hora, conforme (figura 6).

Quando os dados foram modelados para a taxa de passagem de 2%/hora (Figura 6a), foi observado aumento cúbico ao longo da curva de crescimento ($y=2,81E-0,9x^3-0,000209x^2+0,0758x+81,073$) e capacidade elevada do MRE ser degradado no rúmen quando elevados períodos de ensilagem são confrontados com tempos iniciais.. O período máximo de ensilagem (330 dias) proporcionou uma degradabilidade de aproximadamente 3,92 pontos percentuais inferior a degradabilidade potencial (Dp) aos 330 dias. Isto sugere a quase totalidade da MS sendo degradada no ambiente ruminal. O período de 330 dias de ensilagem apresentou 12,35 pontos percentuais de aumento na degradabilidade em relação a 3 dias de ensilagem. Os resultados para degradabilidade na taxa de passagem de 5%/hora (Figura 6b) apresentaram comportamento similar à taxa de passagem mais baixa, com aumento cúbico nos valores de degradabilidade ($y=4E-07x^3-0,0003x^2+0,1328x+66,493$). O período de 330 dias de ensilagem obteve uma maior degradabilidade cerca, 23 pontos percentuais em relação ao menor período de ensilagem. Quando os dados foram computados para taxa de passagem a 8%/hora (Figura 6c), os resultados observados também indicaram comportamento cúbico ($y=4E-07x^3-0,000345x^2+0,154x+57,31$) para degradabilidade. O valor de degradabilidade da MS do MRE aos 330 dias obteve maior degradabilidade em relação ao controle, cerca de 27 pontos percentuais. Os dados obtidos a partir do ensaio de degradabilidade sugerem potencial da ensilagem em promover maiores degradabilidades a medida que o tempo de ensilagem aumenta para todas as taxas de passagem modeladas.

Figura 6 - Efeito do tempo de ensilagem sobre a degradabilidade ruminal do MRE em taxas de passagem do conteúdo ruminal a 2 (a), 5 (b), e 8%/hora (c)



3.5 Discussão

O pericarpo do grão de milho e a matriz protéica em torno do grânulo de amido são as principais barreiras ao acesso dos microrganismos ruminais aos grânulos de amido (KOTARSKI et al., 1992). A barreira imposta pelo pericarpo ao grão do milho pode ser reduzida pela moagem dos grãos, processo pelo qual esta película é rompida e a área de contato dos microrganismos e enzimas com os grânulos de amido é aumentada exponencialmente. Deste modo, a barreira remanescente após a moagem que ainda impõem decréscimo de digestibilidade ao amido, é a matriz proteica. Assim, o uso de milho moído para ensilagem no presente estudo objetivou aumentar a ação de microrganismos fermentadores sobre a matriz proteica do endosperma não fosse limitada pelo pericarpo.

A maior parte do amido que é consumida pelos ruminantes é degradada no rúmen (OWENS et al., 1986). A fermentação do amido no rúmen pode variar (65-83%), dependendo do tipo de milho, bem como o seu processamento e o tipo de animal que o consome. Processamentos que melhorem a fermentabilidade do amido de milho podem representar melhorias impactantes à digestão total do amido devido à relação positiva existente entre o aumento da fermentação ruminal e digestão total do amido (THEURER, 1986). Além disso, a maior fermentação do amido no rúmen aumenta a síntese de proteína microbiana e o aporte deste tipo de proteína ao intestino delgado (SPICER et al., 1986; HERRERA-SALDANÑA, 1990), que é apontada como responsável pelo aumento da produção de amilases no intestino (HUNTINGTON 1994; HUNTINGTON 1997). Desta forma, pode ocorrer aumento na digestibilidade do amido que chega ao intestino delgado aumentando a concentração portal de glicose e a digestibilidade total deste (TANIGUCHI et al., 1993).

O teor de vitreosidade (medida da quantidade do amido do endosperma que está envolvida por prolaminas) pode variar entre cultivares de milho e pode ser bastante amplo. O grão de milho utilizado no presente estudo para reidratação e ensilagem não apresentou teor tão elevado quanto 80% de vitreosidade conforme valores mais elevados reportados para híbridos brasileiros durante estudo comparativo entre híbridos brasileiros e americanos. Foi relatado para os híbridos brasileiros um intervalo de 64,2 a 80% de endosperma vítreo, com média de 73% de endosperma vítreo em comparação com os híbridos americanos que apresentaram valores médios abaixo de 50% do amido na forma vitrea (CORREA et al., 2002). No presente estudo, o milho utilizado para o ensaio apresentou vitreosidade do

endosperma de 67% o que o caracteriza como uma amostra de milho típico das variedades produzidas no Brasil. Mesmo não apresentando níveis demasiadamente elevados de teor de vitreosidade, grãos de milho com características de vitreosidade semelhantes ao utilizado no presente estudo têm o potencial de reduzir para menos de 60% a disponibilidade ruminal de amido (CORREA et al., 2002). Philippeau e Michalet-Doreau (1997), estudando cultivares duros e dentadas em diferentes fases de crescimento, observaram que a vitreosidade no ponto mais elevado de maturidade foi de 72,3% para milhos duros e 48,1% para os híbridos dentados. Resultados acerca do teor de vitreosidade, são semelhantes a outro estudo no qual a vitreosidade foi de 71,8% para duro e 51,4% para híbridos dentados (PHILIPPEAU et al., 2000). Desta forma, a amostra utilizada no presente ensaio foi considerada representativa de milho duro com potencial de diminuir a degradabilidade do amido em dietas de vacas leiteiras.

Estudos que avaliaram alterações da composição de silagens ao longo do tempo de armazenamento são escassos. No presente estudo, foi observada diminuição da concentração de amido ao longo do período de armazenamento. Os resultados da concentração de amido são diferentes dos relatados por Fisher e Burns, (1987) que ao avaliar a composição de silagens encontraram relativa estabilidade na concentração de amido. Esta estabilidade na concentração do amido tem como causa sugerida que o amido durante a ensilagem está este ser indisponível para a maioria das bactérias fermentadoras, as quais são preferencialmente fermentadoras de açúcares solúveis (McDONALD et al., 1991). De acordo com Van Soest (1994), o amido, a pectina e a hemicelulose não são degradados por microrganismos produtores de lactato, mas podem ser degradados por outras bactérias não produtoras de lactato proporcionalmente a sua atividade no silo. A diminuição do teor de amido encontrado no presente estudo corrobora com os resultados descritos por Petterson (1990), que ao analisar silagens constatou degradação de parte do amido durante o processo de ensilagem. No presente estudo, longos períodos de armazenagem reduziram em aproximadamente 3,4% no teor de amido com 330 dias de ensilagem em relação ao milho com 3 dias de ensilagem. Estes dados são similares aos descritos por (OJEDA; DIAS, 1992) quando silagens do sorgo foram analisadas em diferentes períodos de ensilagem. Os valores de perda de amido em nosso ensaio são bastante similares aos relatados por Heinrich (1989) que descreveu perdas de MS de 0,02% ao mês para milho quando armazenado em ambiente seco e em condições de temperatura abaixo dos 10° C, tido como ideal para a não proliferação de insetos consumidores de amido. Com base nos resultados encontrados no presente estudo, é possível

sugerir que a perda de amido durante o processo de ensilagem foram aceitáveis, uma vez que mesmo em condições ótimas de armazenagem a seco o milho sofreu algum grau de perda.

O teor de PB total do MRE não apresentou mudança com o aumento no período de ensilagem. Entretanto foi observado aumento na proporção de nitrogênio não proteico (N-NH₃) em relação ao N total com o aumento do período de ensilagem. O aumento na concentração de nitrogênio não proteico (NNP) sugere que houve deaminação das proteínas pela ação bacteriana durante o processo de ensilagem. Estes resultados de aumento de concentração de N-NH₃ ao longo do período de ensilagem são similares aos resultados relatados por Hoffman et al.(2011), que ao ensilarem grão de milho com alta umidade constataram aumento do N-NH₃ em relação a nitrogênio total com o aumento do tempo de ensilagem. Embora em ambos os estudos os valores tenham se elevado com o aumento do tempo o padrão da curva de elevação e os valores de N-NH₃ entre os estudos não foi igual. A diferença entre os estudos pode ter ocorrido pela diferença de concentração de prolamina no endosperma e a maturidade dos grãos. Os resultados podem ter ocorrido em razão da solubilização da proteína do milho por ácidos orgânicos ou proteólise por atividade microbiana contínua durante o tempo de ensilagem (PRIGGE et al., 1976). Entretanto, segundo Ohshima e McDonald, (1978) a hidrólise ácida não é responsável pela produção de N- NH₃ das silagens. Para estes autores, o N-NH₃ é definido como um produto exclusivo da deaminação de aminoácidos ao invés de um produto de hidrólise ácida. Deste modo, é possível sugerir que o aumento do N-NH₃ descrito em nosso estudo seja oriundo de atividade bacteriana contínua durante todo o período de ensilagem.

As zeínas são as proteínas majoritárias que formam a matriz amido-proteína no endosperma. Este tipo de proteína pode potencialmente ser degradada durante a ensilagem pelo processo por solubilização ou por atividade proteolítica. As zeínas são intensamente hidrofóbicas e insolúveis em água e líquido ruminal, mas são solúveis em ácido láctico e ácido acético (LAWTON, 2002). Deste modo, como a fermentação da silagem produz ácido láctico e acético, as zeínas que formam a matriz amido-proteína podem ser solubilizadas. Adicionalmente, a proteólise é também um mecanismo intrínseco da fermentação, o que resulta em degradação de proteínas do endosperma (BARON et al., 1986). Estes processos de proteólise e produção de ácidos orgânicos com conseqüente solubilização de proteínas, característicos da fermentação, podem ser considerados fatores de aumento da exposição do amido, antes protegido pela matriz proteica, a ação das enzimas bacterianas do rumem. No presente estudo, houve a elevação na concentração de todos os principais ácidos orgânicos

(acético, propiônico, butírico, láctico) e álcool, que são produtos da fermentação. A curva de produção de ácidos orgânicos ao longo do período de ensilagem indica que há atividade continuada dos microrganismos fermentadores. Estes dados de produção de AGCCs e álcool observados ao longo do tempo de ensilagem sugerem que ocorre um efeito deaminador proveniente da atividade microbiológica contínua na massa ensilada além de um efeito de solubilização das proteínas endospermáticas pelos ácidos orgânicos. Além disso, as prolaminas do endosperma podem também sofrer solubilização pelo álcool, uma vez que as prolaminas também são solúveis em soluções alcóolicas. Esta combinação de compostos e ação microbiana pode agir de modo sinérgico sobre as proteínas do endosperma, resultando em efeito progressivo sobre o desaparecimento da proteína do endosperma (zeína) do grão de milho.

A elevada vitreosidade do endosperma pode ser responsável pela redução na digestibilidade total do grão observado para silagem de milho maduro (JOHNSON et al., 2002). Hallada (2009) descreveu que para silagem da planta inteira, o tempo de ensilagem resultou em incrementos da digestibilidade *in vitro* da FDN e do amido da silagem. Embora no presente estudo apenas o grão de milho tenha sido ensilado, incrementos na degradabilidade *in situ* da MS foram observados de acordo com a evolução do tempo de ensilagem. Os resultados do presente estudo são similares aos descritos por Benton et al., (2005) que ao ensilar amostras de milho sob diferentes tipos de processamento, dentre eles milho moído, reidratado e ensilado, observaram aumento da degradabilidade *in situ* da MS do milho com a elevação no período de ensilagem. No entanto, a curva de elevação da degradabilidade diferiu da encontrada no presente estudo. Benton et al. (2005) descreveu uma curva de aumento da degradabilidade com ascendência nos valores de degradabilidade mais acentuados nos primeiros 28 dias. O padrão de aumento na degradabilidade observada em nosso estudo apresentou comportamento ascendente ao longo do tempo de ensilagem, entretanto o aumento na degradabilidade distribuído ao longo do período de ensilagem de modo mais constante. A diferença entre os estudos no padrão de aumento de degradabilidade pode ser explicada pela diferença entre os tipos de milho utilizado, uma vez que o milho utilizado no presente estudo apresenta elevada vitreosidade e o milho do outro estudo pode ter sido de menor vitreosidade. Uma quantidade menor de endosperma vítreo poderia explicar o formato da curva abruptamente ascendente no período inicial de ensilagem e sua relativa estabilização em curto período de ensilagem. O maior teor de endosperma vítreo em no

presente estudo pode ser o motivo pelo qual a estabilização da curva não foi visualizada até o fim de ensaio.

A matriz proteica densa e extensa que recobre o grânulo de amido, já está em formação antes mesmo da maturação fisiológica completa no milho duro, atuando como limitante a digestão ruminal. O avanço na maturidade do grão reduz a disponibilidade ruminal do amido. Estudos que avaliaram a redução da degradabilidade com o avanço da maturidade do milho e sua consequente redução do teor de umidade, reportaram valores de aproximadamente 14 pontos percentuais (62,2 para 47,8%) e de 18,0 pontos percentuais (87,0 para 69,0%) quando o teor de matéria seca da planta passou de 30 para 35%, respectivamente, para milho duro e milho dentado respectivamente. Esta redução é independente do genótipo e é ligada, em grande parte, à diminuição da proporção de amido rapidamente degradável (PHILIPPEAU et al., 1996). A diminuição da disponibilidade do amido do endosperma com a evolução da idade ou diminuição da MS é especialmente importante no presente estudo, uma vez que o milho utilizado para o ensaio foi colhido em grau máximo de maturidade e baixo teor de umidade.

A degradação ruminal do amido é maior em grãos conservados com elevada umidade em comparação com o amido do milho seco (FIRKINS et al., 2001). Quanto maior o período de ensilagem maior a degradabilidade da MS, amido e PB (BENTON et al., 2005; NEWBOLD et al., 2006). No presente estudo longos períodos de ensilagem aumentaram a quantidade de MS com comportamento degradável, pertencentes a fração rapidamente degradável (fração A), a qual é, a fração que é degradada nas primeiras horas de contato com o ambiente ruminal. A fração “A” foi aumentada ao longo do tempo de ensilagem em detrimento a fração “B” que é considerada como de lenta degradação e que possui maiores chances de escapar do rúmen sem ser degradada. Os dados acerca da alteração na proporção das frações da MS sugerem que a degradabilidade ruminal da MS é elevada através da degradação e solubilização progressiva da matriz proteica pelo processo de ensilagem. Aumentar a degradabilidade ruminal significa também maior quantidade de amido que pode ser digerida no trato digestório pois o aumento da degradabilidade do amido aumenta a fermentabilidade da matéria orgânica e a produção de proteína microbiana com consequente aumento na eficiência alimentar e do teor de proteína no leite (HUNTINGTON, 1994). Entretanto, de acordo com Demarquilly (1996), aumentar a quantidade de amido fermentecível em ambiente ruminal contraria a teoria de uso mais eficiente do amido quando este é absorvido sob forma de glicose no intestino em relação a degradação do amido para

produção de AGCC no rúmen, pois este processo gera perdas energéticas. Embora energeticamente seja mais eficiente a digestão do amido no intestino, a redução da fermentabilidade deste carboidrato no rúmen pode comprometer a produção de proteína microbiana por limitação de energia. A vantagem da maior degradabilidade ruminal do amido é a maior produção de proteína microbiana, o que por consequência aumenta fluxo de proteína para o intestino. Maior aporte intestinal de N foi descrito quando grãos de milho foram armazenados sob forma de silagem de grão úmido e apresentaram maior quantidade de amido fermentecível quando comparados com grãos secos (SAN EMETERIO et al., 2000). O maior aporte de N para o intestino tem o potencial de estimular a secreção de amilase pancreática, o que aumentando a digestibilidade total do amido (HUNTINGTON 1994; HUNTINGTON 1997). No presente estudo, a armazenagem do milho úmido sob forma de silagem, mesmo que este tenha sido colhido em ponto máximo de maturidade, proporciona aumento da quantidade de amido disponível para fermentação ruminal, uma vez que houve aumento na porção rapidamente fermentecível deste, além de também ter havido aumento da taxa de degradação da fração B, o que a torna mais rapidamente degradável. Este resultado sugere que com o aumento do tempo de ensilagem a MS do grão de milho sofre aumento da taxa de degradação em ambiente ruminal.

A análise da degradabilidade *in situ* de diferentes alimentos e processamentos é uma prática consagrada para comparar ingredientes e estimar seus respectivos comportamentos de degradação por meio de modelagens. O grão de milho já foi objeto de alguns estudos (.....) que avaliaram, métodos de processamento utilizados para aumentar sua digestibilidade. Entretanto há uma escassez de trabalhos que avaliaram a ensilagem como método de aumento de degradabilidade de grãos de milho de elevada vitreosidade. Os métodos mais tradicionais de aumentar a degradabilidade do amido utilizam calor, umidade e pressão ou colheita do grão imaturo com moagem e ensilagem. A moagem, reidratação e ensilagem do grão de milho maduro é uma opção de armazenagem dos grãos em fazendas leiteiras, além de aumentar a digestibilidade dos grãos.

A degradabilidade efetiva da MS, em relação às taxas de passagem de 2%, 5% e 8%/hora, foi superior para o período de 330 dias de ensilagem, com valores crescentes de acordo com o aumento do tempo de ensilagem. Estes dados indicam que para animais com menores taxa de passagem, o que equivale a animais com menores requerimentos nutricionais, podem ter quase a totalidade da MS do milho degradada no rúmen. Este resultado sugere que em animais de menor fluxo ruminal da digesta a fermentabilidade da

MO seria maximizada, aumentando a produção de AGCC e a passagem de proteína microbiana para o intestino. Embora taxas de passagem mais elevadas tais como 5 e 8%/hora tenham como características a redução da quantidade de MO fermentável no rúmen, por representarem fluxos ruminais mais acelerados, os valores de degradação ruminal da MS, quando o milho permaneceu longos períodos ensilados, foi elevado em relação ao milho ensilado por 3 dias, sugerindo que menos que 20% da MS milho ingerido pelo animal seria digerido no intestino. Este resultado é especialmente importante para animais com maiores potenciais produtivos e que podem conter em suas dietas quantidades elevadas de grãos de milho. Uma vez que estes grãos não sejam degradados no rúmen, pode ocorrer diminuição da fermentabilidade da MO e redução da produção de proteína microbiana. Nestes casos, a quantidade de amido que é destinada à digestão intestinal pode ultrapassar a capacidade de digestão intestinal do animal, uma vez que a produção de amilases pode não estar maximizada devido à diminuição do aporte de N ao intestino.

Os resultados do presente estudo corroboram a hipótese de que barreiras do grão de milho, sendo a zeína sugerida como a principal, são degradadas durante o processo de ensilagem facilitando o acesso dos microrganismos ruminantes assim como de enzimas endógenas para digestão do amido (PHILIPPEAU; MICHALET-DOREAU 1998; JURJANZ; MONTEILS, 2005). Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que cultivares de milhos com elevado teor de vitreosidade, mesmo que colhido com grau máximo de maturidade, o que lhe confere menor degradabilidade ruminal, quando submetidos a longos períodos de ensilagem apresentam aumento de degradabilidade ruminal, podendo-se deste modo otimizar o desempenho animal e a eficiência alimentar.

3.6 Conclusão

O tempo de ensilagem aumenta a fração rapidamente degradável da MS do MRE e diminui a fração lentamente degradável do MRE além de aumentar a taxa de degradação da fração lentamente degradável. O tempo de ensilagem modifica as características de degradabilidade da MS do MRE mesmo que colhidos no ponto máximo de maturidade, elevado teor de matéria seca à colheita e elevado teor de endosperma vitreo.

4 CAPITULO III

4.1 Produção de leite e digestibilidade de nutrientes de vacas leiteiras alimentadas com milho reidratado e ensilado

Resumo

Produção de leite e digestibilidade de nutrientes de vacas leiteiras alimentadas com milho reidratado e ensilado

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do nível de substituição do milho moído seco (MSM) por milho moído reidratado e ensilado (MRE) sobre o consumo, digestibilidade, fermentação ruminal, produção e composição do leite foram avaliadas. Doze vacas da raça Holandesa com média de 550(\pm 30) kg peso vivo e 220(\pm 40) dias em lactação foram distribuídas em 3 quadrados latinos contemporâneos 4x4 com 4 tratamentos e 4 períodos, com 14 dias para adaptação e 7 dias para coleta de amostras e dados. As dietas experimentais consistiram de quatro níveis de substituição (0, 33, 66 e 100%) de milho seco moído (MSM) por milho reidratado e ensilado (MRE). A silagem de cana-de-açúcar foi a fonte de volumoso utilizado nas dietas, perfazendo 460 g/Kg MS. As vacas foram alimentadas com dieta total formulada para ser isoenergética (1,55 Mcal/Kg MS) e isoproteica (150 g/Kg MS), cujo única fonte de variação foi a substituição do MSM por MRE. O consumo de matéria seca, matéria orgânica, proteína, carboidratos não fibrosos e carboidratos totais foram maiores em vacas alimentadas com 100% de inclusão de MRE em relação a dieta com zero de inclusão de MRE. O consumo de amido foi reduzido em vacas alimentadas com 100% de inclusão do MRE em relação a dieta com zero de inclusão de MRE. Vacas alimentadas com 100% de inclusão de MRE produziram mais leite, leite corrigido para gordura, produção de gordura, proteína, caseína e lactose. A digestibilidade da matéria seca, estrato etéreo, carboidratos totais, carboidratos não fibrosos, matéria orgânica, proteína bruta e amido foi maior em vacas alimentadas com 100% de inclusão de MRE. A proporção de ácido propiônico no fluido ruminal foi maior para vacas alimentadas com 100% de inclusão do MRE. Foi observada

menor concentração de amônia no líquido ruminal em vacas alimentadas com dieta de 100% de substituição. A substituição total do MSM por MRE aumentou o consumo, digestibilidade, produção de leite e a proporção de ácido propiônico no fluido ruminal em 3 horas após a alimentação e reduz a concentração de amônia no líquido ruminal 3 horas após a alimentação.

Palavras-chave: Milho. Ensilagem. Leite. Digestibilidade. Amido.

Abstract

Milk production and nutrient digestibility of dairy cows fed corn kernel silage rehydrated

The aim of the present study the effect of the level of replacement of dry ground corn (DGC) and rehydrated by corn silage (REC) on intake, digestibility, ruminal fermentation, production and milk composition were evaluated were evaluated . Twelve Holstein cows averaging 550 (± 30) kg body weight and 220 (± 40) days in milk were distributed in 3 contemporary 4x4 Latin square design with 4 treatments and 4 periods, with 14 days for adaptation and 7 days for collection sample and data. The experimental diets consisted of four levels (0, 33, 66 and 100%) of dry ground corn (DGC) for rehydrated and ensiled corn (REC). Silage cane sugar was the source of roughage in the diets used , totaling 460 g/kg DM. Cows were fed complete diet formulated to be isocaloric (1.55 Mcal/kg DM) and isoproteic (150 g/kg DM), whose only source of variation was the replacement of the MSM by MRE. The dry matter intake, organic matter, protein, non-fibrous carbohydrates and total carbohydrates were higher in cows fed 100 % inclusion of SRMs regarding diet with zero inclusion of MRE. The intake of starch was reduced in cows fed 100% inclusion of MRE in relation to diet with zero inclusion of REC. Cows fed 100% inclusion of SRMs produced more milk, fat corrected milk yield , fat yield , protein , casein and lactose. The digestibility of dry matter, ether layer, total carbohydrates, no fiber carbohydrates, organic matter, crude protein and starch was higher in cows fed 100 % inclusion of REC. The proportion of propionic acid in the rumen fluid was higher for cows fed 100 % inclusion of REC. Lower concentration of ammonia was observed in rumen fluid in cows fed a diet of 100% replacement. Total replacement of DGC by REC increased intake, digestibility , milk production and the proportion of propionic acid in the

rumen fluid in 3 hours after feeding and reduces the concentration of ammonia in the rumen fluid 3 hours post feeding.

Keywords : Corn . Silage . Milk. Digestibility . Starch .

4.2 Introdução

Embora a produção, concentração e quantidade total de componentes do leite possam ser afetadas por numerosos fatores, a disponibilidade de energia e proteína são os mais críticos (LAFLEUR et al., 2010). Estratégias nutricionais para aumentar quantidade de glicose pós-ruminal ou de ácido propiônico no rúmen podem aumentar a produção de leite de proteína láctea. No entanto, tais estratégias devem evitar o aumento da inclusão de fontes proteicas na dieta, pois a maior inclusão de proteína resulta em baixa eficiência alimentar e alto custo energético (LEMOSQUET et al., 2004). O aumento de produtividade pode ser alcançado pelo uso eficiente de fontes energéticas tais como o amido.

O amido consiste na fonte primária de energia em dietas para vacas de média e alta produção, e representa cerca de 70 a 80% da matéria seca (MS) da maioria dos grãos de cereais usados para a alimentação de vacas leiteiras. Portanto, otimizar a sua utilização é fundamental para aumentar a eficiência na produção de leite (PIRES et al., 2008). O local de digestão do amido em ruminantes pode afetar a eficiência do uso da energia. De acordo com Owens e Goetsch (1986), a eficiência de uso da energia da dieta é 42% superior quando o amido é digerido no intestino delgado em comparação com a fermentação ruminal. Entretanto alguns estudos indicaram que o desempenho de novilhos de corte (ALIO et al., 2000; LOZANO et al., 2000) e de vacas leiteiras (THEURER et al., 1999) são superiores quando as fontes de amido são degradadas no rúmen, em comparação com a digestão intestinal.

O milho é a principal fonte de amido usada na pecuária, sendo que as variedades cultivadas no Brasil, em geral apresentam elevada vitreosidade (fração do amido envolvida por matriz proteica) (PEREIRA et al., 2004). O uso de variedades de milho com maiores percentuais de endosperma mais compacta e com maior quantidade de matriz proteica envolvendo os grânulos de amido resulta em menor degradabilidade do amido *in vitro* e *in situ* (PHILIPPEAU et al., 2000; CORREA et al., 2002; NGONYAMO-MAJEE et al., 2008), assim como menor digestibilidade do amido *in vivo* (ALLEN et al., 2008) e decréscimo da produção de leite (TAYLOR; ALLEN, 2005). Deste modo, para aumentar a digestibilidade do amido do milho, é necessário diminuir a barreira formada pela matriz proteica, por meios de baixo custo econômico e ambiental.

A ensilagem embora seja considerada um método de conservação, também pode aumentar a digestibilidade do FDN e do amido da silagem de milho (planta inteira) e do grão de acordo com o aumento do de ensilagem (BENTON et al., 2005; HALLADA, 2009). A

causa provável do aumento de digestibilidade da MS do milho ensilado é a redução da integridade da matriz proteica que reveste o grânulo de amido, o que o tornaria mais susceptível ao ataque enzimático pelas bactérias e enzimas digestivas do próprio animal (HOFFMAN et al., 2011).

Entretanto, são escassos os estudos sobre o aumento da degradabilidade ruminal de fontes de amido a partir de grãos de milho colhidos maduros, reidratados e ensilados assim como o nível ótimo de inclusão do MRE em substituição ao MSM nas dietas de vacas leiteiras que tenham silagem de cana-de-açúcar como volumoso. Deste modo para avaliar a hipótese de que a substituição do MSM por MRE aumenta a digestibilidade do amido e a produção de leite em vacas leiteiras, o presente estudo objetiva avaliar a substituição gradativa do MSM por MRE sobre os parâmetro de consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais e produção de leite.

4.3 Materiais e métodos

4.3.1 Animais e instalações

O presente estudo foi realizado nas dependências da PUSP-P Pirassununga, no período de agosto de 2012 a novembro de 2012. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, em terço final de lactação 200 ± 40 dias com peso corporal de aproximadamente 550 ± 30 kg e produção média de $22.02 \pm 1,4$ kg/dia. As vacas foram alojadas em baias individuais (16 m^2), com controle individual de consumo de alimentos e regime de duas ordenhas por dia. As vacas foram selecionadas com base no bom estado de saúde, produção de leite, peso corporal, ordem de partos, sendo excluídas vacas com alterações visuais do leite (mastite clínica) ou que tenham sido submetidas ao tratamento de mastite nas últimas duas semanas antes da seleção. Foi utilizado delineamento em quadrado latino com total de 3 quadrados contemporâneos, 4 períodos de 21 dias e 4 tratamentos. As coletas de amostras para análises ocorreram durante os 7 últimos dias de cada período experimental, durante o qual foram mensurado e analisados o consumo de matéria seca e nutrientes, produção de leite (PL), composição do leite, digestibilidade dos nutrientes, composição da dieta e parâmetros ruminais.

4.3.2 Alimentação e dietas

As vacas foram alimentadas na forma de dieta completa em duas refeições diárias (manhã e tarde) de forma individualizada, sendo formuladas para serem isocalóricas (1.55 Mcal/Kg MS) e isoproteicas (150 g/Kg MS) e atender aos requerimentos de uma vaca de 550 kg de peso vivo e produção de 22 kg leite/dia, com base nas recomendações do NRC (2001). As dietas (Tabela 4) foram formuladas usando como ingredientes com base de silagem de cana-de-açúcar como volumoso, farelo de soja, ureia, grão de milho moído (Tabela 5), suplemento mineral e vitamínico e seguiram o nível de substituição (0, 33, 66 e 100%) do milho seco moído (MSM) por milho moído reidratado (MRE) e ensilado.

Tabela 4 - Proporção dos ingredientes da dieta e composição química, expressos na matéria seca (g/Kg de MS), de acordo com o nível de substituição do milho seco moído (MSM) por milho moído reidratado e ensilado (MRE)

	Dietas (nível de substituição de MSM por MRE)			
	0%	33%	66%	100%
	<i>Ingredientes g/kg MS</i>			
Silagem de cana-de-açúcar	460,3	460,3	460,3	460,3
MSM ¹	338,3	223,08	114,92	-
MRE ²	-	114,92	223,08	338,3
Farelo de soja	167,2	167,2	167,2	167,2
Ureia	6,8	6,8	6,8	6,8
Bicarbonato de sódio	7,7	7,7	7,7	7,7
Fosfato Bicálcico	3	3	3	3
Cloreto de sódio	1,3	1,3	1,3	1,3
Mistura mineral ³	15,4	15,4	15,4	15,4
	100	100	100	100
	<i>Composição bromatológicas g/kg MS</i>			
Matéria Seca	406,5	398,1	386,3	354,2
Matéria Orgânica	958	951,5	957,9	958
Matéria Mineral	42	48,5	42,1	42
Proteína Bruta	151,18	150,4	150,13	150,9
Amido	253,3	251,3	250,7	250,1
Extrato Etereo	31,2	29	25,8	21,0
FDN ⁴	360,8	381,8	378,1	372,4
FDA ⁵	220,4	219,4	230,3	223,
Liginina	32,8	33	33,4	34,1
NDT ⁶	682,1	684,4	681,2	680,8

1-MSM- Milho seco moído; 2- MRE- Milho Reidratado e Ensilado; 3 Mineral mixture composition per kg: 180g Ca, 90g P, 20g Mg, 20g S, 100g Na, 3000mg Zn, 1000mg Cu, 1250mg Mn, 2000mg Fe, 200mg Co, 90mg I, 36mg Se, 900mg F (maximum). 4- Fibra em detergente neutro; 5- Fibra em detergente ácido; 6- Nutrientes digestíveis totais.

Tabela 5 - Composição dos ingredientes da dieta expressos com base na MS

Composição Química	Silagem de Cana-de açúcar	Farelo Soja	MSM	MRE
	<i>g/Kg MS</i>			
Matéria Seca	246,70	879,52	877,60	645,50
Matéria Orgânica	958,30	975,19	978,30	977,60
Matéria Mineral	41,70	24,81	21,70	22,40
Proteína Bruta	32,20	470,30	84,3	89,25
Extrato Etéreo	11,12	20,75	46,60	39,13
Fibra Detergente Neutro	640,20	210,80	160,41	98,20
Fibra Detergente Ácido	410,59	130,89	71,70	53,45
Nitrogênio Insolúvel Detergente Neutro	0,70	8,64	1,20	0,70
Nitrogênio Insolúvel Detergente Ácido	0,20	2,90	7,85	3,46
Amido	-	55,31	690,78	689,91
Lignina	62,00	20,10	20,90	23,60

A cana-de-açúcar (*saccharum spp.*) foi colhida e picada mecanicamente por picadeira (Premiun Flex[®] Menta Máquinas Agrícolas Cajuru/São Paulo, Brasil) e inoculada com *Lactobacillus buchneri* (Lalsil[®] Cana - Katec Lallemand, Goiânia, Brasil) na concentração de 5×10^4 ufc/g de foragem, sendo submetida a processo de ensilagem por um período de 90, dias antes de ser fornecida aos animais. A silagem de cana de açúcar fez 460 g/Kg MS da dieta e foi o único volumoso oferecido as vacas.. No momento da moagem, amostras de milho (grão integral) foram coletadas para análise da umidade e vitreosidade (DOMBRINK-KURTZMAN & BIETZ 1993), as quais apresentaram valores de 870 g MS/Kg e 670 g amido/Kg de endosperma. O milho em grão foi então moído em moinho de martelos com peneira de 2 mm, sendo posteriormente submetido a reidratação para obter-se MS de 670 g MS/Kg e adicionado de inoculante bacteriano (*Lactobacillus bruchneri* cepa CNCM I-4323). A mistura do milho moído com a água foi realizada em vagão misturador (UNIMIX 1200[®] Casalle) por 10 minutos. O calculo utilizado para a quantidade de adição de água foi: $(((\text{umidade do grão} * \text{Kg milho a ensilar})/100 + (\text{litros d'agua}))) * 100 / (\text{peso do milho a ensilar} + \text{litros de água adicionado})$. O milho foi reidratado ensilado em tambores plásticos de 200l pelo período de 90 dias a uma densidade de 915 kg/m^3 antes de ser ofertada aos animais. O restante do milho utilizado como milho seco moído (MSM) também foi amostrado para análise de vitreosidade, o qual apresentou valores iguais a 64% (± 4) de endosperma vítreo.

4.3.3 Coleta de amostras e análises de alimentos

Durante os últimos 7 dias de cada período foram coletadas amostras de dieta, sobras, fezes e ingredientes que compunham a dieta. As amostras coletadas foram imediatamente embaladas em sacos plásticos e congelados a temperatura de -20°C para posterior análise. Após o descongelamento, as amostras de silagem de cana-de-açúcar, sobras, ingredientes e fezes foram pré-secadas em estufa com ventilação forçada ($60^{\circ}\text{C}/72$ horas) e processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 0.2 mm (marca Marconi, modelo MA 048), de MS (AOAC, 1990; método 934.01), PB (AOAC, 1990; método 988.05), extrato etéreo (AOAC, 1990; método 920.39), cinzas (AOAC, 1990; método 942.05). Concentrações de FDN e FDA foram determinadas de acordo com Van Soest et al., (1991), com uso de amilase termoestável mas sem sulfito de sódio. O amido foi determinado segundo método de Rossi Júnior e Pereira (1995), procedendo-se a extração prévia dos carboidratos solúveis segundo Hendrix (1993). Nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), lignina e amido foram analisados de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002).

O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado conforme equação do NRC (2001), em que: $\text{NDT} = \text{CNFd} + \text{PBd} + (\text{AGd} * 2,25) + \text{FDNd} - 7$, em que PBd, CNFd, FDNd e AGd representam o total destes nutrientes digestíveis. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos com a utilização de α -amilase sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em sistema Ankon[®] (VAN SOEST; MASON, 1991).

4.3.4 Coleta e análise de leite

A produção de leite foi mensurada diariamente por meio de sistema eletrônico acoplado ao sistema de ordenha mecânica, e os resultados foram anotados em planilhas. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura para posterior avaliação, segundo fórmula descrita por Sklan et al. (1994), onde $\text{PLC} = (0,432 + 0,1625 * \text{teor de gordura do leite}) * \text{Kg de leite}$. As amostras de leite para análise foram coletadas no 16º e 17º de cada período experimental, sendo cada amostra proveniente das duas ordenhas diárias (60%

correspondente à ordenha da manhã e 40% à ordenha da tarde), a partir do copo coletor acoplado ao sistema de ordenha.

Para análise de composição do leite (proteína bruta, gordura, lactose, caseína, nitrogênio ureico, sólidos totais) as amostras foram conservadas em frascos acrescidos de Bronopol enviadas para o Laboratório de Fisiologia da Lactação da ESALQ – USP (Clínica do Leite). As concentrações de gordura, lactose, caseína, sólidos totais e proteína bruta, foram analisadas por absorção infravermelha, utilizando-se equipamento Bentley 2000[®] e o nitrogênio uréico no leite (mg/dL), pelo método enzimático espectrofotométrico no equipamento ChemSpeck 150[®] (BENTLEY, 1995b). A contagem eletrônica de células somáticas das amostras de leite foi realizada por citometria de fluxo com equipamento Somacount 300[®] no Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Produção Animal da ESALQ-USP (Piracicaba-SP).

4.3.5 Digestibilidade aparente total da dieta e parâmetros ruminais

A determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes foi obtida através da diferença entre o consumido e o excretado. A quantidade total de matéria seca fecal excretada foi estimada pela coleta total de fezes por 72 horas de acordo com adaptação da técnica descrita por Ferreira et al. (2009), onde as fezes foram cuidadosamente coletadas diretamente do piso da baia 5 vezes ao dia para pesagem. Para as análises que envolveram a coleta de amostras fezes, as mesmas foram coletadas diretamente do reto no 15^o e 18^o dias de cada período experimental, sempre antes das ordenhas da manhã e da tarde, sendo acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer à - 20°C.

O líquido ruminal foi coletado utilizando-se sonda esofágica (ORTOLANI, 1981), para determinação do pH, concentração de amônia e ácidos graxos de cadeia curta, nos tempos 0 (zero) anterior a alimentação, e três horas após a alimentação matinal, no 19^o dia de cada período experimental. Amostras de 50 ml de líquido ruminal foram utilizadas para leitura imediata do pH, por potenciômetro. Após a leitura, as amostras foram centrifugadas (2500-3000 rpm, 15 minutos) e posteriormente, 2 ml foram adicionadas a 1 ml de solução de H₂SO₄ 1N e armazenados à -20°C, até a realização das análises. Para análise de AGCC foi utilizado amostra de 5mL, a qual foi imediatamente congelada a -20°C. A concentração dos AGCC foi determinada por cromatografia gasosa, segundo Erwin et al. (1961).

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2001), após verificação da normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo Proc-UNIVARIATE. Os dados foram analisados de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED do SAS. O efeito de tratamento foi decomposto em três contrastes polinomiais ortogonais (linear, quadrático e cúbico), de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + A(Q)_k + Pl + e_{ijkl}$, em que:

Y_{ijkl} = é o valor observado;

μ = média geral;

T_i = efeito fixo de tratamento i , ; Q_j = efeito fixo do quadrado latino j , $j = 1$ a 3 (2 GL);

$A(Q)_k$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado latino, $k = 1$ a 12 (9 GL);

Pl = efeito fixo do período l , $l = 1$ a 4 (3 GL); e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação.

4.4 Resultados

No presente estudo, o consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em percentual do peso vivo (CMSPV), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de proteína (CPB), consumo de carboidratos totais (CHOT), consumo de carboidratos não fibrosos (CNF) e consumo de amido (CA) e o percentual de amido nas sobras (AS) foram influenciados nível de substituição do MSM por MRE (Tabela 6).

O CMS apresentou comportamento linear ascendente ($P=0,006$), descrita pela equação $y = 17,95 + 0,02 * SMRE$ e foi maior de acordo com o aumento nível da substituição do MSM por MRE. De forma similar ao CMS CMSPV, CMO e CHOT foram maiores para vacas alimentadas com substituição total de MSM por MRE ($P=0,006$; $P= 0.008$ e $P=0.0003$), respectivamente. A substituição de 100% do MSM por MRE gerou um aumento de 0.300; 1.6 e 1.3 Kg no consumo para CMSPV, CMO e CHOT, respectivamente de acordo com as equações (CMSPV $2,92 + 0,003 * SMRE$; CMO $17,048 + 0,016 * SMRE$ e CHOT $14,15 + 0,013 * SMRE$).

O consumo adequado da proteína dietética para vacas leiteiras é fundamental para manter a fermentabilidade e a cinética ruminal assim como o metabolismo animal. Para mensurar o consumo desta, análises de PB foram realizadas na dieta e nas sobras para obter a

estimativa do consumo deste nutriente. O CPB apresentou comportamento linear ascendente ($P= 0,0003$) de acordo do aumento da substituição do MSM por MRE. O consumo de PB aumentou 350 g/dia para vacas alimentadas com 100% de substituição da MSM por MRE de acordo com a equação $y= 2,49+0,0025*SMRE$.

Os carboidratos são as principais fontes energéticas da dieta de bovinos. Análises para determinar o consumo de CCNF envolveram a determinação das frações fibrosas dos alimentos que compunham a dieta e assim por diferença foram estimadas as frações de CNF. O CCNF, de modo similar a maior parte das variáveis de consumo apresentou comportamento linear crescente em relação ao aumento da substituição do MSM por MRE. O aumento do CCNF foi descrito de acordo com a equação $y= 8,85+0,12*SMRE$.

O amido é principal CNF da dieta, o consumo deste é determinante para que a vaca obtenha o aporte energético necessário para sustentar suas exigências produtivas . O consumo de amido apresentou comportamento linear decrescente ($P= 0,0001$) para vacas com maior nível de substituição de MSM por MRE. A substituição de 100% do MSM por MRE reduziu o consumo de amido, de acordo com a equação $y= 5,15-0,006*SMRE$. Na equação pode-se prever que a cada ponto percentual em que o MRE substitui o MSM o consumo de amido reduz 0,6 g. A concentração de amido nas sobras foi maior em vacas alimentadas com dieta contendo zero de substituição de MSM por MRE. Vacas alimentadas com 100% de substituição tiveram maior concentração de amido nas sobras diárias da alimentação ($P<0.001$). O aumento da concentração de amido nas sobras a medida que cresce o nível de substituição do MSM por MRE pode ser predito pela equação $y= 10,08+0,039*SMRE$. As demais variáveis inerentes ao consumo não apresentaram influência significativa em relação aos tratamentos aplicados.

Tabela 6 - Efeito do nível de substituição do milho seco moido (MSM) por milho reidratado e ensilado (MRE) sobre consumo de nutrientes expressos com base na matéria seca

Variable	Nível de substituição de MSM por MRE (SMRE)				P					
	0	33	66	100	Média	EPM	L	Q	C	
<i>Kg/vaca/dia</i>										
CMS ¹	18,16	18,49	18,54	19,97	18,79	0,28	0,006	0,20	0,38	
CA ²	5,08	5,02	4,89	4,45	4,86	0,07	0,0001	0,054	0,58	
CMO ³	17,25	17,51	17,58	18,87	17,80	0,26	0,008	0,19	0,43	
CPB ⁴	2,54	2,55	2,57	2,89	2,61	0,03	0,003	0,069	0,42	
CFDN	6,34	6,39	6,24	6,57	6,39	0,13	0,48	0,42	0,37	
CEE	0,41	0,41	0,42	0,43	0,42	0,006	0,22	0,59	0,93	
CHOT ⁵	14,31	14,55	14,60	15,65	14,78	0,22	0,0091	0,22	0,41	
CNF ⁶	9,03	9,27	9,43	10,19	9,48	0,18	0,0003	0,20	0,46	
<i>% Peso vivo</i>										
CMSPV ⁷	2,95	3,01	3,02	3,25	3,06	0,04	0,006	0,19	0,38	
CFDNPV	1,01	1,01	0,99	1,04	1,01	0,02	0,47	0,4	0,37	
<i>g/Kg/MS</i>										
AS ⁸	101,9	116,1	118,8	145,4	120,5	0,51	0,0001	0,32	0,20	

L= linear; Q= quadrático; C= cúbico; EPM= Erro padrão da média; CMS (consumo de matéria seca); CA (consumo de amido); CMO (consumo de matéria orgânica); CPB (consumo de proteína bruta); CFDN (consumo de fibra em detergente neutro); CEE (consumo de extrato etéreo); CHOT (consumo de carboidratos totais); CNF (consumo de carboidratos não fibrosos); CMSPV (consumo de matéria seca por peso vivo); CFDNPV (consumo de FDN por peso vivo); AS (amido nas sobras) ¹ CMS= 17,95+0,02*SMRE; R²=0,10. ² CA=5,15-0,006*SMRE; R²=0,18. ⁷ CMSPV= 2,92+0,003*SMRE; R²=0,10. ³CMO= 17,048+0,016*SMRE; R²= 0,09 ⁴CPB = 2,49+0,0025*SMRE; R²=0,12 ⁵ CHOT= 14,15+0,013*SMRE; R²= 0,09 ⁶ CNF= 8,85+0,12*SMRE; R²= 0,14. ⁸ AS = 10,08+0,039*SMRE; R²= 0,17.

4.4.1 Produção e composição do leite

A produção de leite (PL), produção de leite corrigido para 3,5% de gordura, produção de gordura (Kg/vaca/dia), produção de proteína (Kg/vaca/dia), produção de lactose (Kg/vaca/dia) e a produção e concentração de sólidos totais (ST) (Kg/vaca/dia) apresentaram resposta linear positiva de acordo com o aumento da substituição do MSM por MRE. O teor de PB, gordura, caseína e lactose não sofreram influência significativa em relação ao nível de substituição de MSM por MRE (Tabela 7).

A produção de leite (PL) apresentou comportamento linear ascendente (P<0.0001), para níveis crescentes de substituição de MSM por MRE. A substituição de 100% do MSM

proporcionou uma produção de leite 2,13 l maior do que vacas que somente receberam MSM na dieta. A predição da produção de leite em relação ao aumento na substituição de MSM por MRE pode ser feita através da equação $y = 21,04 + 0,019 * SMRE$. A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (PCL 3,5%) também apresentou resposta linear ascendente ($P = 0,0005$), onde a substituição total do MSM proporcionou as vacas produção de 2,68 l maior que a ausência de substituição. A equação $22,81 + 0,02 * SMRE$, pode ser utilizada para prever o aumento da produção em relação ao aumento do nível de substituição de MSM por MRE.

A produção de gordura, proteína, caseína e sólidos totais (ST) (kg/vaca/dia) e teor de ST apresentaram resposta linear crescente para o nível máximo de substituição. Segundo as equações de regressão de aumento da produção de gordura e proteína ($y = 0,84 + 0,0001 * SMRE$, $y = 0,68 + 0,0007 * SMRE$, $y = 0,52 + 0,00024 * SMRE$, $y = 2,65 + 0,0034 * SMRE$ e $y = 12,65 + 0,004 * SMRE$ respectivamente). A produção de lactose (kg/vaca/dia) também apresentou comportamento quadrático com maior produção para as vacas alimentadas com 100% de substituição do MSM por MRE. O comportamento de produção para lactose pode ser predito pela equação $y = 0,98 - 0,00129x + 0,00002x^2 * SMRE$. O NUL apresentou comportamento quadrático para o aumento do nível de substituição de MSM por MRE. As demais variáveis da composição do leite (gordura, proteína, lactose e caseína) não sofreram influência do nível de substituição do MSM po MRE.

Tabela 7 - Efeito do nível de substituição do milho seco moido (MSM) por milho reidratado e ensilado (MRE) sobre a produção e composição do leite

Variável	Nível de substituição do MSM por MRE (SMRE)						P			
	0	33	66	100	Média	EPM	L	Q	C	
	<i>Kg/vaca/dia</i>									
PL ¹	21,29	21,39	21,98	23,42	22,02	0,46	<0,0001	0,05	0,8	
PLC 3.5% ²	23,08	23,16	24,35	25,76	24,09	0,51	0,0005	0,21	0,71	
Gordura	0,85	0,85	0,91	0,95	0,89	0,02	0,003	0,4	0,60	
PB	0,69	0,69	0,72	0,76	0,72	0,012	0,0006	0,17	0,17	
Lactose	0,97	0,95	0,99	1,05	0,99	0,02	0,003	0,03	0,78	
Caseína	0,53	0,53	0,54	0,58	0,54	0,01	0,019	0,78	0,65	
ST	2,70	2,70	2,84	3,04	2,82	0,056	0,0001	0,10	0,74	
	<i>g/100ml</i>									
Gordura	4,02	4	4,17	4,07	4,07	0,06	0,48	0,72	0,32	
Proteína	3,30	3,26	3,32	3,28	3,29	0,04	0,90	0,99	0,28	
Lactose	4,57	4,48	4,48	4,48	4,50	0,04	0,06	0,16	0,45	
Caseína	2,49	2,48	2,49	2,51	2,49	0,039	0,77	0,7	0,97	
ST	12,71	12,67	12,99	13,03	12,85	0,11	0,03	0,79	0,27	
	<i>mg/dl</i>									
NUL	16,60	17,68	17,12	16	16,85	0,38	0,40	0,008	0,69	

L= linear; Q= quadrático; C= cúbico; EPM= Erro padrão da média; PL (produção de leite); PLC 3,5% (produção de leite corrigida para 3,5% de gordura) PB (proteína bruta); ST (sólidos totais); NUL (nitrogênio ureico do leite).
¹PL= 21.04+0.019*SMRE; R²= 0.05. ²PLC 3.5%= 22.81+0.02*SMRE ; R²= 0.07 Gordura (kg/day)= 0.84+0.001*SMRE; R²=0.06. PB (kg/day) = 0.68+0.0007*SMRE; R²= 0.09 Lactose (kg/dia)= 0.98-0.0012*SMRE +0.00002*SMRE²; R²=0.04. ST kg/dia: 2.65+0.0034*SMRE; R² 0,05. Caseína (kg/dia): 0,52+0,00024*SMRE. R²: 0,015. Lactose (kg/dia): 0,98-0,00129*SMRE+0,00002*SMRE², R²: 0,08. ST%: 12,65+0,004*SMRE R²: 0,019. NUL: 16,44+0,053*SMRE-0,0005*SMRE². R²: 0,06.

4.4.2 Digestibilidade aparente

Os valores de digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta foram obtidos por diferença da quantidade consumida e a quantidade excretada de cada um dos nutrientes. A digestibilidade para matéria seca (CDMS), extrato etéreo (CDEE), digestibilidade dos carboidratos não fibrosos (CDCNF), digestibilidade da matéria orgânica (CDMO), digestibilidade dos carboidratos totais (CDCT), digestibilidade da proteína dietética (CDPB) e

digestibilidade do amido (CDA) foram influenciados pelo nível de substituição do MSM por MRE tratamentos aplicados. As demais variáveis (CDFDN e CNDT) não sofreram influência do nível de substituição do MSM por MRE (Tabela 8).

Tabela 8 - Médias ajustadas para efeito do teor de substituição de MSM por MRE das dietas sobre a digestibilidade dos nutrientes

Variável	Nível de substituição do MSM por MRE (SMRE)*					EPM	P			
	0	33	66	100	Média		L	Q	D	
	<i>g/Kg MS</i>									
CDMS	674,9	672,8	689,5	698,5	683,9	0,63	0,05	0,56	0,53	
CDMO	668,2	675,9	688,0	704,3	68,41	0,58	0,006	0,64	0,99	
CDFDN	464,9	474,2	464,5	437,1	46,02	1,64	0,41	0,47	0,99	
CDEE	754,4	752,4	782,7	803,7	77,33	0,77	0,005	0,39	0,48	
CDCNF	745,4	751,4	775,5	810,9	77,08	0,68	<0,0001	0,16	0,88	
CDCT	657,2	668,6	679,1	692,0	67,42	0,63	0,018	0,94	0,94	
CDPB	704,4	691,8	708,7	747,8	71,32	0,70	0,005	0,02	0,88	
CNDT	661,9	665,4	676,3	686,7	67,26	0,80	0,12	0,77	0,88	
CDA	911,6	946,3	969,2	991,1	95,46	0,57	<0,0001	0,38	0,73	

*SMRE (nível de substituição de milho seco moído por milho reidratado e ensilado); CDMS (digestibilidade aparente da matéria seca); L= linear; Q= quadrático; C= cúbico; EPM= Erro padrão da média; CDFDN (digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro); CDEE (digestibilidade aparente do estrato etéreo); CDCNF (digestibilidade aparente dos carboidratos não fibrosos); CDMO (digestibilidade aparente da matéria orgânica); CDCT (digestibilidade aparente dos carboidratos totais); CDCPB (digestibilidade aparente da proteína bruta); NDT (nutrientes digestíveis totais) e CDA (digestibilidade aparente do amido); CDEE: $74.84+0.05*SMRE$; $R^2: 0.12$. CDCNF: $73.73+0.06*SMRE$; $R^2: 0.28$. CDMO: $66.67+0.03*SMRE$; $R^2: 0.10$. CDCT: $65.68+0.035*SMRE$; $R^2: 0.08$. CDPB: $70.81-0.092*SMRE+0.001*SMRE^2$; $R^2: 0.18$. CDA: $91.52+0.07*SMRE$; $R^2: 0.56$.

A digestibilidade da matéria seca (CDMS) teve comportamento linear crescente para o maior nível de substituição de MSM por MRE. O nível de substituição de 100% aumentaram a digestibilidade da MS 23,6 g/Kg MS do que aquelas sem inclusão do MRE. O aumento na digestibilidade da MS pode ser predita segundo a equação $y=67,08+0,023*SMRE$, na qual para cada unidade percentual de substituição do MSM por MRE a digestibilidade será aumentada em 23g por Kg de MS. A matéria orgânica é a porção potencialmente digestível da dieta. Os valores referentes a este parâmetro são obtidos a partir da análise da porção mineral dos componentes da dieta que subtraído da MS gerando a MO. O CDMO apresentou comportamento linear com maior digestibilidade da matéria orgânica (P=0.006) para a substituição total do MSM por MRE. O aumento na digestibilidade da MO pode ser predita através da equação $y=66,67+0,03*SMRE$. A CDEE apresentou resultado

linear ascendente para o nível máximo de substituição do MSM por MRE de acordo com a equação $y=74,84+0,05*SMRE$.

Os carboidratos totais (CT) representam a fração energética da dieta e são obtidos a partir da análise dos CNF e carboidratos fibrosos (CF). Os resultados de CDCT e CDCNF tiveram comportamento similar com comportamento linear crescente para 100% de substituição do MSM por MRE. O aumento da digestibilidade para CDCT e CDCNF podem ser preditos através das equações $y= 65,68+0,035*SMRE$ e $y=73,73+0,06*SMRE$ respectivamente. Os coeficientes de digestibilidade (CDA) do amido tiveram resposta linear crescente, de acordo com o nível de substituição de MSM por MRE. O aumento da digestibilidade do amido tem sua predição expressa pela da equação $91,52+0,07*SMRE$, que indica a elevação da digestibilidade a medida do aumento do nível de substituição, com maior nível de substituição do MSM por MRE (T100) em relação aos animais alimentados com a dieta controle.

A CDPB apresentou comportamento quadrático com maior valor de digestibilidade para dietas com 100% de substituição do MSM por MRE. O comportamento de aumento na digestibilidade da PB tem sua predição expressa pela equação $y= 70,81-0,092*SMRE+0,001*SMRE^2$. As demais variáveis (CDFDN e CDNDT) não sofreram influência significativa do nível de substituição do MSM por MRE.

4.4.3 Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC), N-NH₃ e pH ruminal

A produção ruminal de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Tabela 9) foi realizada em dois tempos: antes da alimentação da manhã e 3 horas após a alimentação representando o pico de fermentação. A proporção de AGCC não apresentou efeito do ao nível de substituição do MSM por MRE. A concentração de N-NH₃ e o pH do liquido ruminal apresentaram comportamento linear decrescente para dietas com 100% de substituição de MSM por MRE. A predição do comportamento de redução do NH₃ e do pH poder ser realizados pelas equações $y= 28,57-0,00409*SMRE$ e $y= 7,30-0,0073*SMRE$ respectivamente.

Tabela 9 - Efeito do nível de substituição de MSM por MRE em dietas de vacas leiteiras sobre a produção de AGCC, pH e N-NH₃ do fluido ruminal em 0 e 3 horas após a alimentação

	Nível de substituição do MSM por MRE (SMRE)*				P		
	0	33	66	100	L	Q	C
<i>Propionato mmol/100mol</i>							
Tempo							
0	13,66	14,66	13,19	11,74	0,13	0,25	0,59
3	18,54	18,97	17,1	21,11	0,17	0,07	0,06
P tempo	0,0002	0,0006	0,0015	<0,0001			
<i>Acetato mmol/100mol</i>							
0	45,75	47,4	43,95	40,15	0,2	0,44	0,76
3	53,78	56,32	51,6	61,16	0,19	0,24	0,11
P tempo	0,03	0,02	0,04	<0,0001			
<i>Butirato mmol/100 mol</i>							
0	7,33	7,17	6,41	6,04	0,07	0,85	0,7
3	12,7	11,7	12,31	14,13	0,18	0,08	0,91
P tempo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001			
<i>NH₃ mg/dl</i>							
0	25,59	26,75	25,81	25,4	0,86	0,69	0,76
3	31,08	28,44	25,76	23,39	0,01	0,94	0,97
P tempo	0,01	0,44	0,98	0,36			
<i>pH</i>							
0	7,63	7,52	7,41	7,55	0,34	0,11	0,47
3	7,02	7	6,8	6,81	0,03	0,8	0,29
P tempo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001			

L= linear; Q= quadrático; C= cúbico; EPM= Erro padrão da média; NH₃ (3h)= 28,57-0,00409*SMRE e pH (3h)= 7,30-0,0073*SMRE.

4.5 Discussão

4.5.1 Consumo

As estratégias nutricionais para aumentar o consumo de matéria seca (CMS) em rebanhos leiteiros objetivam aumentar o desempenho animal (MERTENS, 1994). A substituição do MSM por MRE resultou em aumento do CMS de forma linear. Entretanto os

resultados do presente estudo diferem dos compilados por Allen (2000), que ao comparar vários tipos de grãos de cereais com diferentes digestibilidade, concluiu que o aumento na porção degradável do amido no rúmen apresentou efeito depressor sobre CMS. De acordo com Oba e Allen (2003b) foi observada redução de 1,7 Kg de MS, dietas com 32% de amido, onde dietas com substituição de MSM por silagem de grão úmido. Entretanto os resultados de CMS em relação a digestibilidade do amido são variáveis (THEURER et al., 1999; CALLISON et al., 2001), o que sugere mais fatores além da digestibilidade exercendo efeito sobre o consumo.

Os resultados de CMS do presente estudo são diferentes de alguns estudos com diferentes degradabilidade do amido. Uma possível explicação para o aumento do CMS no presente estudo pode ser feita pela análise da quantidade de amido total ingerido. As vacas alimentadas com dieta contendo nível de substituição de 100% do MSM por MRE apresentaram menor quantidade (4.45 Kg/dia) de amido consumido em relação aos demais tratamentos (5.08, 5.02 e 4.89 Kg/dia) para os tratamentos com 0, 33 e 66% de substituição de MSM por MRE. O maior CMS e a redução do podem estar relacionadas a variação do teor de MS da dieta. A substituição completa do MSM por MRE aumentou o teor de umidade da dieta com 100% de substituição do MSM por MRE (64,5%) em relação as demais dietas (59,3; 60,1 e 61,3%). A maior umidade do MRE em relação ao MSM aumentou a umidade total da dieta. A maior umidade da dieta total reduziu a capacidade de seleção das vacas em relação aos ingredientes, principalmente a porção concentrada. As quantidades de amido nas sobras apresentaram resultado linear ascendente com menor quantidade de amido encontrado nas sobras de dieta com ausência de substituição de MSM por MRE, sugerindo que os animais alimentados com menores participações de MRE foram capazes de selecionar mais eficientemente a porção concentrada da dieta. A menor possibilidade de seleção da porção concentrada possivelmente estimulou as vacas a consumirem maior quantidade de dieta para alcançarem os seus requerimentos nutricionais.

O CMO, CPB, CHOT e CNF foram maiores de acordo com o aumento do nível de substituição do MSM por MRE. O maior CMS para vacas com 100% de substituição é sugerido com explicação para o aumento do consumo dos nutrientes restantes da dieta. O nível máximo de inclusão de MRE não apresentou efeitos negativos sobre parâmetros de consumo.

4.5.2 Digestibilidade

A substituição do MSM por MRE aumentou ($P= 0.05$) digestibilidade da MS e a digestibilidade da matéria orgânica (DMO). No presente estudo, o aumento da DMO foi similar aos resultados descritos Allen e Oba (2003c), os quais relataram aumento de aproximadamente 4% DMO para vacas alimentadas com dietas contendo silagem de grão úmido comparados com grão de milho moído seco. No presente estudo, o aumento da na digestibilidade da MO foi de aproximadamente 2% superior para o tratamento com maior nível de substituição (100%), de acordo com a predição da equação $y=17,95+0,02*SMRE$. Desta forma, este aumento da digestibilidade foi similar aos descritos obtidos por Bradford e Allen (2007), no qual a digestibilidade da matéria orgânica foi 2,9% superior quando as vacas receberam dietas contendo silagem de grão úmido em comparação com milho seco moído. Estes resultados sugerem que a manipulação do grão de milho pela conservação úmida aumenta a digestibilidade da matéria orgânica. O aumento na digestibilidade da matéria orgânica pode ser explicada pelo processamento e armazenamento úmido do milho, que aumenta a degradação da matriz proteica, o que por sua vez aumenta a digestibilidade do milho da dieta, o que também pode ter elevado a fermentabilidade da MO.

A ensilagem do grão de milho moído causa o provocar o desaparecimento das subunidades da zeína (principal proteína que compõem a matriz proteica) que reveste o grânulo de amido (HOFFMAN et al., 2011). Deste modo, o acesso microbiano e enzimático ao grânulo de amido é facilitado, o que aumenta a digestibilidade do amido. A CDA do presente estudo, quando as vacas foram alimentadas como nível mais alto de substituição foi aproximadamente 8% maior em relação ao nível sem inclusão de MRE. De forma similar, Knowlton et al. (1998) relataram aumento de 19% na degradabilidade ruminal e 14% na digestibilidade total do amido para dietas com silagem de grão úmido em comparação com MSM. A variação de digestibilidade descrita entre os estudos em relação ao processamento pode ocorrer pela diferença de vitreosidade entre as variedades de milho dos estudos. Segundo Theurer (1986), a resposta ao processamento dos grãos de milho parece ser inversamente proporcional a digestibilidade. Deste modo, cultivares de milho com maior teor de vitreosidade pode apresentar maior resposta ao processamento do que as cultivares mais farináceas (SODERLUND; OWENS, 2006). Entretanto, aumento de digestibilidade de amido não é uma regra em todos os estudos sobre processamentos de grãos para elevar a degradabilidade. Oba e Allen (2003c) relataram que não houve diferença de digestibilidade

total do amido em duas dietas com duas diferentes concentrações de amido (320 e 210 g/Kg MS), em relação ao processamento do grão do milho (moído seco e silagem de grão úmido), embora a degradabilidade ruminal da silagem de grão tenha sido maior para dietas com grão úmido. Estes resultados sugeriram um efeito compensatório da digestão intestinal do amido. O processamento do grão do milho pela reidratação e ensilagem (MRE), considerando os resultados de degradabilidade *in situ* obtidos no experimento 1 do presente estudo indicam aumento de degradação total do MRE de acordo como o tempo de ensilagem. Este resultado sugere que a reidratação e ensilagem do grão de milho maduro resulta em efeito similares descritos para silagem de grão úmido, cujo processo de ensilagem resulta em degradação progressiva a matriz proteica do endosperma e aumento na degradabilidade do amido. Apesar de não ter sido determinada degradabilidade ruminal do MRE no presente estudo, os resultados do teste de degradabilidade ruminal *in situ* do MRE e do MSM indicam que a substituição do MSM por MRE também aumentou a degradabilidade ruminal do amido no presente estudo. Além disso, estes resultados sugerem que o processo de fermentação foi intensificado quanto maior foi o nível de substituição do MRE por MSM, o que pode explicar a maior digestibilidade dos carboidratos totais (DCT) e dos carboidratos não fibrosos (DCNF) em dietas com substituição total do MSM por MRE.

Os resultados observados no presente estudo são similares aos descritos por Wilkerson et al. (1997) que ao comparar a silagem de grão úmido com milho seco moído ou laminado, observaram maior digestibilidade dos carboidratos não fibrosos e da proteína bruta da dieta quando as vacas foram alimentadas com silagem de grão úmido. De acordo com estes autores a DEE foi apenas influenciada pelo método de processamento, sendo maior para grãos mais intensamente processados.

A digestibilidade da fibra dietética (DFDN) no presente estudo não foi afetada pela substituição do MSM por MRE. O aumento na fermentabilidade do amido é sugerido como um causador de diminuição da digestibilidade de fibra dietética (KNOWLTON et al., 1998; THEURER et al., 1999), por diminuição do pH (BEAUCHEMIN et al., 2001; CORONA et al., 2006; DILORENZO et al., 2011) que é apontado como causa da diminuição da atividade de microrganismos fibrolíticos (STROBEL; RUSSEL, 1986). Nossos resultados são similares descritos por Oba e Allen (2003c) os quais em estudo comparando dietas com silagem de grão úmido e milho moído seco em dois níveis de amido na dieta não observaram efeito sobre a digestibilidade da fibra dietética. Resultados de estudos sobre DFDN e aumento da degradabilidade de amido são variáveis (CALLISON et al., 2001). Até mesmo correlações positivas entre digestibilidade do amido e da fibra tem sido relatadas (TAYLOR; ALLEN,

2005). Estes resultados tem sido sugeridos por haver uma espécie de uso de produtos de degradação do amido por bactérias fibrolíticas (TRICARICO et al., 2005). A degradação de amido por bactérias amilolíticas produz maltodextrina que pode ser utilizadas para crescimento de bactérias fibrolíticas (COTTA, 1992).

4.5.3 Produção e Composição do Leite

A produtividade é um dos parâmetros mais importantes dentro de qualquer sistema produtivo. O aumento da digestibilidade da dieta é uma estratégia nutricional para incrementar a produção e a eficiência. Em compilação de 43 estudos foi relatado aumento de produção pela manipulação do sítio de digestão do amido, com o aumento da degradabilidade ruminal do amido em detrimento da digestão intestinal do milho ou sorgo pela floculação (THEURER et al., 1999). No presente estudo a produção de leite (PL) foi 2,13 Kg/vaca/dia maior quando as vacas foram alimentadas com dieta de 100% de substituição de MSM por MRE em comparação com dietas sem inclusão de MRE na dieta.. Estes resultados são similares aos descrito por Wilkerson et al. (1997) que relataram produção de aproximadamente 2 Kg/vaca/dia maior para os animais comendo silagem de grão úmido em comparação com milho seco moído. Em outro estudo, Santos et al. (1999) descreveram aumento da degradabilidade ruminal do amido do milho por uso da floculação, obtendo produção de leite 1,5Kg/vaca/dia maior para vacas alimentados com milho floculado. A maior produção de leite observada no presente estudo pode ter ocorrido pelo aumento de CMS e da digestibilidade da MO. O aumento de consumo de nutrientes assim como o aumento na digestibilidade resultam em maior disponibilidade de energia disponível para a produção de leite. Entretanto, a ausência e até mesmo a redução de produção de leite foram relatados quando a degradabilidade ruminal do milho é aumentada. A ausência de efeito em vacas de alta produção e composição foi observada por Bradford e Allen (2004), para vacas de alta produção (41 Kg/vaca/dia) com milho seco moído ou silagem de grão úmido. Estes resultados são similares aos descritos por Knowlton et al. (1998) que também não observaram diferença de desempenho em animais submetidos a dietas contendo milho seco ou ensilado, embora a digestibilidade do milho ensilado tenha sido maior. Por outro lado, Shabi et al. (1999) forneceram milho extrusado para vacas leiteiras e observaram produção 1,2 kg/vaca/dia menor que vacas alimentadas com milho moído, mesmo que a digestibilidade tenha do amido

tendo sido maior para dietas com milho extrusado. Respostas diferentes ao aumento da degradabilidade ruminal do amido sugerem aspectos multifatoriais atuando sobre a produção de leite e seus componentes, tais como tipo de milho, nível de produção, qualidade e quantidade de fibra, e proteína na dieta.

A ausência de efeito depressor sobre o teor de gordura do leite em relação ao aumento na degradabilidade do milho sugere que a PCL 3,5% tenha apresentado comportamento similar a da PL. No presente estudo, a concentração de gordura no leite foi diferente daqueles observados por Oba e Allen (2003b) os quais relataram redução de cerca de meio ponto percentual no teor de gordura do leite da dieta contendo silagem de grão úmido em relação ao milho moído. Os resultados observados por estes autores estão em acordo com compilação de estudos realizada entre os anos de 2000 e 2011 por Ferraretto et al. (2013) os quais descreveram maiores concentrações de gordura no leite em vacas leiteiras alimentadas com milho seco moído em relação a dietas contendo silagem de grão úmido ou milho floculado. No presente estudo, a ausência de redução na concentração da gordura do leite possivelmente não ocorreu devido às características do FDN do volumoso (silagem de cana-de-açúcar. A cana-de-açúcar apresenta baixa digestibilidade e alta efetividade de sua porção fibrosa (THIAGO; GILL, 1993). A efetividade aumentada da fibra possivelmente não permitiu a queda do pH ruminal em níveis não suficientes para causar diminuição na produção de gordura característicos de vacas com acidose ruminal (KRAUSE et al., 2005).

O efeito linear crescente dietas com substituição total do MSM por MRE sobre a PL é sugerido como a explicação mais provável para as produções lineares ascendentes de gordura, proteína bruta, caseína e lactose e sólidos totais (Kg/vaca/dia). Deste modo é possível sugerir que nas condições do presente estudo, a substituição do MSM por MRE aumentou o consumo, digestibilidade de nutrientes proporcionando aumento na produção de leite e quantidade de componentes do leite.

4.5.4 Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC), NH₃ e pH ruminal

Durante a fermentação ruminal, as populações de microrganismos degradam os carboidratos para produzir energia, gases (CH₄ e CO₂), calor e ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico butírico). O tipo de fonte e a disponibilidade dos carboidratos da dieta influenciam a quantidade e a proporção de AGCC que são produzidos no rúmen.

Embora o aumento da degradabilidade ruminal do amido possa aumentar a proporção ruminal de ácido propiônico (PLASCENCIA; ZINN et al., 1996; KNOWLTON et al., 1998; CASPER et al., 1990), no presente estudo, a proporção molar dos principais AGCC (acético, propiônico e butírico) não foram diferentes em relação aos níveis de substituição de MSM por MRE em nenhum dos tempos de coleta. Resultados do presente estudo que são diferentes dos descritos por Crocker et al. (1998), os quais relataram aumento linear para os principais AGCC quando houve substituição (0, 33, 67 e 100%) do milho moído da dieta por milho floculado.

Neste estudo, a concentração de $N-NH_3$ do fluido ruminal apresentou comportamento linear decrescente de acordo com o nível de substituição de MSM por MRE. Os resultados do presente estudo estão de acordo com os descritos por Crocker et al. (1998) que também observou a diminuição linear nos valores de amônia no fluido ruminal a medida que aumentou a degradabilidade do amido da dieta. Segundo Russell et al. (1983), a redução na concentração de amônia ruminal ocorre pela maior utilização da amônia por microrganismos ruminais quando há aumento na fermentação ruminal do amido. O decréscimo de concentração de $N-NH_3$ observada no presente estudo foi também descrito por outros estudos que manipularam e aumentaram a disponibilidade ruminal de carboidratos (CASPER et al., 1990; PIWONKA et al., 1994).

O pH ruminal apresentou comportamento linear decrescente em relação ao aumento no nível de substituição de MSM por MRE. Estes resultados são diferentes dos relatados por Oba e Allen, (2003) observaram diminuição do pH ruminal para as dietas com mais alta concentração de amido, sem que o método de conservação ou processamento apresentasse efeito sobre o pH. De forma similar, Crocker et al. (1998), relataram que não houve alteração no pH ruminal ao substituir gradativamente milho moído por milho floculado mantendo a mesma concentração de amido nas dietas. Outro estudo no qual o milho seco moído ou laminado foi comparado com silagem de grão úmido moído ou laminada também não relatou efeitos das dietas sobre o pH ruminal (KNOWLTON et al., 1998). Estes estudos sugerem que o pH ruminal não é afetado pela fermentação se a capacidade de tamponamento da dieta não for superada (ALLEN, 1997).

4.6 Conclusão

A substituição do MSM por MRE na dieta de vacas leiteiras em terço final de lactação aumenta o consumo (MS, MSPV, MO, PB, Amido, CHOT e CNF), a digestibilidade (MS, MO, EE, CNF, CT, PB e amido), a produção de leite, produção de componentes do leite (G, PB, lactose, caseína e sólidos totais). O processo de reidratação e ensilagem do milho pode ser uma estratégia capaz de alterar as características do milho de modo aumentar a produção de vacas leiteira.

REFERÊNCIAS

- ALIO, A. THEURER, C. B; LOZANO, O; HUBER, J.T; SWINGLE, R.S; DELGADO-ELORDUY, A; CUNEO, P; DeYOUNG, D; WEBB. KE, JR. Splanchnic nitrogen metabolism by growing beef steers fed diets containing sorghum grain flaked at different densities. **Journal Animal Science**, v. 78, n. 5, p. 1355-1365, 2000..
- ALLEN, M. S. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1447-1462, 1997.
- ALLEN, M. S.;LONGUSKI, R. A.; YING, Y. Endosperm type of dry ground corn grain affects ruminal and total tract digestion of starch in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 529, 2008. Supplement, 1.
- ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; OBA, M. Board invited review: the hepatic oxidation theory of de controlo f the feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 3317-3334, 2009.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1598-1624, 2000.
- ALLI, I.; BAKER, B. E.; GARCIA, J. Studies on the fermentation of chopped sugarcane. **Animal Feed Science and Tecchnology**, Amsterdam, v. 7, p. 411-417, 1982.
- AMARAL, R. C.; BERNARDES, T. F. **Conhecendo e escolhendo híbridos de milho para silagem**. 2012. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/conservacao-de-forragens/conhecendo-e-escolhendo-hibridos-de-milho-para-silagem-80791n.aspx>. Acessado em: 23 nov. 2013.
- ANDRADE FILHO, R. Reconstituição, inoculação e ensilagem de grãos de milho maduros. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOTECNIA. 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.
- ANDRADE, J. B.; FERRARI RUNIOR, E.; BRAUN, G. Valor nutritive da silagem de cana-de-açucar tratada com ureia e adicionada de rolão de milho. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTEKNIA, 36., 1999, Porto Alegre **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington: AOAC, 1995.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITYCAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 11. ed. Washington: AOAC, 1990.
- AROEIRA, L. J. M.; LOPES, F. C. F.; DAYRELL, M. S. Degradabilidade de alguns alimentos no rúmen de vacas Holandês/Zebu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 25, n. 6, p. 1178-1186, 1996.

ATHANASSOF, N. A. A cana na alimentação dos animais domésticos. **Revista Agrícola**, n. 15, p. 421-427, 1940.

BACK, S.P.; LAZZARI, F.A. Produção, comercialização e consumo de milho em grãos no Brasil. In: LAZZARI & LAZZARI, Silagem de grãos úmido de milho, Curitiba: Ed. Leal Ltda, 2001. p.1-6.

BAL, M. A.; COORS, J. G.; SHAVER, R. D. Impact of maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion, and Milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2497-2503, 1997.

BALL, S. G.; VAN DE WAL, M. H. B. J.; VISSER, G. F. Progress in understanding the biosynthesis of amylose. **Trends Plants Science**, v. 3, p. 462-467, 1998.

BARON, V. S.; STEVENSON, K. R.; BUCHANAN-SMITH, J. G. Proteolysis and fermentation of corn grain ensiled at several levels and under several simulated storage methods. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 66, n. 2, p. 451-461, 1986.

BEAUCHEMIN, K. A., McALLISTER, T. A.; DONG, Y.; FARR, B. I.; CHENG, K.-J. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. **Journal Animal Science**, v. 72, p. 236-246, 1994.

BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. Effects of grain processing on the site and extent of digestion of beef feedlot finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaing, v. 79, n. 7 p. 1925-1936, 2001.

BENGOCHEA, W. L.; LARDY, G. P.; BAUER, M. L.; SOTO-NAVARO, S. A. Effect of grain processing degree on intake, digestion, ruminal fermentation and performance characteristics of steers fed medium-concentrate growing diets. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2815-2825, 2005.

BENTLEY. **Bentley 2000**: operator`s manual. Chasca. 1995A.

BENTLEY. **Somacount 500**: operator`s manual. Chasca. 1995B.

BENTON, J. R.; KLOPFENSTEIN, T. J.; ERICKSON, G. E. Effects of corn moisture and length of ensiling on dry matter digestibility and rumen degradable protein. **Nebraska Beef Report**. p. 31-33. 2005. Disponível em: <http://digitalcommons.unl.edu/animalscinbcr/151/>. Acessado em 26 ago 2013.

BERNARDES, T. F.; SILVEIRA, R. N.; COAN, R. M.; REIS, R. A. Características fermentativas e presença de levedura na cana-de-açúcar crua ou queimada ensilada com aditivo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002.

BICUDO, R. C. BICUDO, C. T.; FORATO, A.L.; COLNAGO, A. L.; LANÇAS, M. F.; Análise de zeínas do milho por LC-ESI-Q/TOF. São Carlos, SP.: EMBRAPA 2006. Comunicado técnico 77.

BRADFORD, B. J.; ALLEN, M. S. Phlorizin administration does not attenuate hypophagia induced by intraruminal propionate infusion in lactating dairy cattle. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 326-330, 2007.

BRAFORD, B. J.; ALLEN, M. S. Milk fat responses to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3800-3807, 2004.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and Molecular Biology of by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 533-550, 2000.

CAGAMPANG, G. B.; KIRLEIS, A.W. Relationship of sorghum grain hardness to selected physical and chemical measurements of grain quality. **Cereal Chemistry**, v. 61, p. 100-105, 1984.

CALLISON, S. L.; FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L.; HULL, B. L. Site of nutrient digestion by dairy cows fed corn of different particle sizes or steam-rolled. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1458-1467, 2001.

CASPER, D. P.; SCHINGOETHE, D. J.; EISENBEISZ, W. A. Response of early lactation dairy cows fed diets varying in source of nonstructural carbohydrate and crude protein. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 4, p. 1039-1050, 1990.

CHERNEY, J. H.; CHERNEY, D. J. R. Assessing silage quality. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R.; HARRISON, J. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p. 141-198.

CHESSON, A.; FORSBERG, C. W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. 2. ed. London: Blackie Academic and Professional, 1997. p. 329-381.

CORONA, F. N.; OWENS, F. N.; ZINN, R. A. Impacto of corn vitreousness and processing on site and extend of digestion by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 3020. 2006.

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

CORRÊA, C. E. S.; PERREIRA, M, N.; OLIVEIRA, S. G.; RAMOS, M. H. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 60, n. 4, 2003. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90162003000400003&script=sci_arttext>. Acesso em: 12 jun. 2013.

COSTA, C.; ARRIGONI, M. D. B.; SILVEIRA, A. C. Custos: silagem de grãos úmidos de milho. **Boletim do Leite**, ano 5, n. 51, p. 2, 1998.

COSTA, M. G.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C. Desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com diferentes proporções de cana-de-açúcar e concentrado ou silage de milho na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6 p. 2437-2445, 2005.

COTTA, M. A.. Interaction of ruminal bacteria in the production and utilization of maltooligosaccharides from starch. *Applied Environmental Microbiology*. v. 58 n. 1, 48-54. 1992.

CROCKER, L. M.; DePETERS, E. J.; FADEL, J. G.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S. J, Wyckoff, J. A.; ZINN, R. A. Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2394-2407, 1998.

CUMMINS, K. W.; SEDELL, J. R.; SWANSON, E. J.; MINSHALL, G. W.; FISHER, S. G.; CUSHING, C. E.; PETERSEN, R. C.; VANNOTE, R. L. Organic matter budgets for stream ecosystems: problems in their evaluation. In: BAR-NES, J. R.; MINSHALL, G. W. (Ed.). **Stream ecology**: application and testing of general ecological theory. New York: Plenum Press, 1983. p. 299-353.

DAVIDE, M. C. **Controle genético de caracteres associados a dureza dos grãos e a degradabilidade ruminal de milhos tropicais**. 2009. 88 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

DEFOOR, P. J.; BROWN, M. S.; OWENS, F. N. Reconstitution of grain sorghum for ruminants. In CATTLE GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, 1., 2006, Oklahoma: CGP, 2006. p 93-98.

DEMARQUILLY, C. Quelles méthodes - pour quels objectifs. In: **Colloque maïs ensilage**. Nantes: Association Générale des Producteurs de Maïs, 1996. p. 87-91.

DILorenzo, N. SMITHA, D.R.; QUINNA, M.J.; MAYA, M.L.; PONCEA, C.H.; STEINBERG, W.; ENGSTROMC, M.A.; GALYEAN, M.L. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 137, n. 1. p. 178-1884, 2011.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A.; BIETZ, J. A. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 105-108, 1993.

DUARTE, J. de O. **Importância econômica do milho**. Sete Lagoas, MG.: Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção, 2004.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Economia da produção**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/economia.htm>. Acesso em: 17 jan. 2011, 23:54:10.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, p. 1768-1771, 1961.

FERRARETTO, L. F.; CRUMP, P. M.; SHAVER, R. D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 533-550, 2013.

FERREIRA, L. C.; GONÇALVES, L. C.; MOLINA, L. R.; CASTRO NETO, A. G.; TOMICH, T. R. Características de fermentação da silagem de can-de-açúcar tratado com ureia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 423-433, 2007.

FERRELL, C. L. Metabolismo de la energía. In: CHURCH, D. C. (Ed.). El rumiante fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza: **Acribia**, 1993. p. 283-304.

FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L.; ST-PIERRE, N. R.; NOFTSGER, S. M. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. E218–E238, 2001. Supplement.

FISHER, D. S.; BURNS, J. C. Quality analysis of summer-annual forages. II. Effects of forage carbohydrate constituents on silage fermentation. **Agronomy Journal**, v. 79, p. 242-248, 1987.

FRENCH, D. Chemical and physical properties of starch. **Journal of Animal Science**, v. 37, p. 1048-1061, 1973.

GIBBON, B.; LARKINS, B. A. Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. **Trends in Genetic, London**, v. 4, n. 4, p. 227-233, 2005.

GONZALES, E.; MACLEOD, N. A. Spontaneous fermentation of sugar cane. **Tropical Animal Production**, v. 1, p. 80-84, 1976.

GALINAT, W. C. The origin the maize: grain of humanity. **New York Botanical Garden Journal**, v. 44, p. 3-12, 1995.

GRANT, R. Optimizing starch concentrations in dairy rations. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2005, Fort Wayne. **Proceedings...** Fort Wayne, 2005.

HALLADA, C. Why new corn silage doesn't feed as well. Hoard's Dairyman, Novembro/2009. Disponível em: <http://www.qualitysilage.com/PDF/C-Hallada-Why-new-corn-silage-Hoards-111009.pdf>>. Acesso em: 30 jun 2013.

HAMAKER, B. R.; MOHAMED, A. A.; HABBEN, J. E.; HUANG, C. P.; LARKINS, B. A. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. **Cereal Chemistry**, v. 72, p. 583-588, 1995.

HARMON, D. L.; MCLEOD, K. R. Glucose uptake and regulation by intestinal tissues implications and whole-body energetics. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 1, p. E59-E72, 2001.

HARMON, D. L. Understanding starch utilization in the small intestine of cattle. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 22, n. 7, p. 915-922, 2009.

HARRIS JR, B. **Harvesting, storing and feeding silage to dairy cattle**. Florida: Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2003. 13 p. CIR 565.

HARRIS JR, B.; VAN HOM, H. H.; MANOOKIAN, K. E.; MARSHALL, S.P.; TAYLOR, M.J.; WILCOX, C.J. Sugarcane Silage, Hidroxiide and steam pressure- treated sugarcane bagasse, corn silage, cottoseeds hulls, sodium bicarbonate and aspergillis products in complete rations for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 1474-1485, 1983.

HEINRICH, B. Grain preservation by means of refrigeration in tropical countries. **Sulzer Technical Review**, v. 71, n. 4, p. 19-23, 1989.

HENDRIX, D. L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science**, v. 33, p. 1306-1311, 1993.

HERNANDEZ, M. R. Avaliação de variedades de cana-de-açúcar através de estudos de desempenho e digestibilidade aparente com bovinos, Jaboticabal, 1998. 78 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 1998.

HERRERA-SALDAÑA R.; GOMEZ-ALACRON, R.; TORABI, M.; HUBER, J. T. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutriente utilization and microbial protein synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 142–148, 1990

HERRERA-SALDANHA, R.; HUBER, J. T. Influence of varying protein and starch degradabilities on performande of lactation cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 1477-1483, 1989.

HOFFMAN, P. C.; ESSER, N. M.; SHAVER, R. D.; COBLENTZ, W. K.; SCOTT, M. P.; BODNAR, A. L.; SCHMIDT, R. J.; CHARLEY, R. C. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.2465–2474.

HOFFMAN, P. C.; SHAVER, R. D. **A guide to understanding prolamin**. 2009. Disponível em: <<http://www.das.psu.edu/research-extension/dairy/nutrition/pdf/shaver-prolamin-guide-2009.pdf>>. Acessado em: 20 ago. 2013.

HOLDING, D. R.; LARKINS, B. A. Zein storage proteins. In: KRIZ, A. L.; LARKINS, B. A. HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydr Polym**, v. 45, p. 253-267, 2001.

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 852–867, 1997.

HUNTINGTON, G. B. Ruminant starch utilization progress has been extensive. **Feedstuffs**, v. 66, p. 35, 1994.

JAMES, L. A. **Comfith in rations for livestock**. Barbados: CIDA, 1973.

JOHNSON, B. C.; YOUNG, B. G.; MATTHEWS, J. L. Effect of postemergence application rate and timing of mesotrione on corn (*Zea mays*) response and weed control. **Weed Technology, Lawrence**, v. 16, n. 2, p. 414-420, 2002.

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

JURJANZ, S.; MONTELS, V. Ruminal degradability of corn forages depending on the processing method employed. **Animal Research**, v. 3, p. 15-23, 2005.

KAKADE, L. M.. Biochemical basis for the differences in plant protein utilization. 1. **Agriculture. Food Chemistry**. v. 22, p. 550, 1974.

KIRK, W. G.; CROWN, R. N. Sugarcane silage, shocked sugarcane and carpetgrass as roughages for beef cattle. **Bulletin University of Florida Agriculture Experiment Station**, n. 373, 1942.

KNOWLTON, K. F.; GLENN, B. P.; ERDMAN, R. A. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 12, p. 1972-1984, 1998.

KOTARSKI, S. F.; WANISKA, R. D.; THURN, K. K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, v. 22, p. 178-190, 1992.

KRAUSE, K. M.; OETZEL, G. R. Inducing subacute abdominal ruminal acidosis in lactating dairy cows. **American Dairy Science Association**, v. 88, p. 8633-8639, 2005.

BRUN-LAFLEUR, L.; DELABY, L.; HUSSON, F.; FAVERDIN, P. Predicting energy × protein interaction on milk yield and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4128-4143, 2010.

LAWTON, J. W. Zein: A history of processing and use. **Cereal Chemistry**, v. 79, n. 1, p. 1-5, 2002.

LAZZARI, F. A.; LAZZARI, S. M. N. Aspectos sanitários da silagem de grãos úmido de milho. In: _____. **Silagem de grãos úmido de milho**. Curitiba: Ed. Leal Ltda, 2001. p. 39-46.

LEH, W. M. Elaboração da silagem de grão úmido de milho em grandes propriedades. In: _____. **Silagem de grãos úmido de milho**. Curitiba: Ed. Leal Ltda, 2001. p.7-18.

LEMOSQUET, S.; RIGOUT, S.; BACH, A.; RULQUIN, H.; BLUM, J. W. Glucose metabolism in lactating cows in response to isoenergetic infusions of propionic acid or duodenal glucose. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1767-1777, 2004.

LIMA, G. J. M. M. Milho e subproduto na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. p. 13-32.

LOZANO, O. THEURER, C.B.; ALIO, A.; HUBER, J.T.; DELGADO-ELORDUY, A.; CUNEO, P.; DE YOUNG, D.; SADIK, M.; SWINGLE, R.S. Net absorption and hepatic metabolism of glucose, L-lactate and volatile fatty acids by steers fed diets containing

sorghum grain processed as dry-rolled or steam-flaked at different densities. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 5, p. 1364-1375, 2000.

MATTHE, A.; LEBZIEN, P.; HRIC, I.; FLACHOWSKY, G.; SOMMER A. Effect of starch application into proximal duodenum of ruminants on starch digestibility in the small and total intestine. **Archives Animal Nutrition**, v. 55, p. 351–369, 2001.

McALLISTER, T. A.; BAE, H. D.; JONES, G. A.; CHENG, K. J. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal Animal Science**, v. 72, p. 3004–3018, 1994.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Merlow: Chalcomb Publications, 1991. 340 p.

MCGUFFEY, R. K.; OWENS, J. Effect of covering and dry matter at ensiling on preservation of alfafa in bunker silos. **Journal Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 298-305, 1979.

MEHREZ, A. Z.; ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v. 38, p. 437-443, 1977.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Winsconsin: American Society of Agronomy, 1994. p. 450-493.

MILLIGAN, L. P. GROVUM, W. L.; DOBSON A.(Ed.). **Control on digestion and metabolism in ruminants**. Engle wood Cliffs: Prentice Hall, 1986. chap. 8, p. 196-223.

MORAES, L. M. P. Amilases. In: SAID, S.; PIETRO, R. **Enzimas como agentes Biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004. cap. 13, P. 222–242.

MU-FORSTER, C.; WASSERMAN, B. P. Surface localization of zein storage proteins in starch granules from maize endosperm: proteolytic removal by thermolysin and in vitro cross-linkage of granule-associated polypeptides. **Plant Physiology**, v. 116, n. 4, p. 1563-1571, Apr. 1998.

NRC. NATIONAL CORN GROWERS ASSOCIATION. Disponível em: <http://www.ncga.com>. Acessado em: 20 mar. 2013.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academy Press, 2001. 381p.

NECEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of digestion starch in the gastrointestinal tract of dairy cow and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3598-3629, 1991.

NEVES NETO, J. T. **Desempenho e parametros ruminais de vacas leiteiras alimentadas com silage de cana-de-açúcar e fontes de nitrogenio não proteico e energia no concentrado**. 2009. 82 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba, 2009.

NEWBOLD, J. R.; LEWIS, E. A.; LAVRIJSEN, L.; BRAND, H. J.; VEDDER, H.; BAKKER, J. Effect of storage time on ruminal starch degradability in corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. T94, 2006. Supplement, 1.

NGONYAMO-MAJEE, D.; SHAVER, R. D.; COORS, J. G.; SAPIENZA, D.; LAUER, J. G. Relationship between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm. I. Development of near-infrared reflectance spectroscopy calibrations. **Animal Feed Science Technology**, v. 142, p. 259–274, 2008a.

NGONYAMO-MAJEE, D.; SHAVER, R. D.; COORS, J. G.; SAPIENZA, D.; LAUER, J. G. Relationship between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm. II. Ruminal and post-ruminal degradabilities. **Animal Feed Science Technology**, v. 142, p. 259–274, 2008b.

NUSSIO, L. G.; RIBEIRO, J. L.; PAZIANI, S. F. Fatores que interferem no consumo de forragens conservadas. In: VOLOMOSO NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES: VALOR ALIMENTÍCIO DE FORRAGENS, 2003. Jaboticabal: Funep, 2003. p. 27-50.

NUSSIO, L. G. Milho e sorgo para a produção de silagens. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Ed.). **Volúmosos para bovinos**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1993. p. 75-177.

NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F.; NUSSIO, C. M. B. Ensilagem de capins tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. p. 60-99.

NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2., Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2004. p. 1-33.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effect of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy starch concentration. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n.1, p. 184-194, 2003a.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 174-183, 2003b.

OHSHIMA, M.; McDONALD, P. A review of changes in nitrogenous compounds in herbage during ensiling. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 29, n. 6, p. 497-505, 1978.

OJEDA, F.; DIAZ, D. Estudio de diferentes proporciones de sorgo y dolichos ensilados con y sin preservantes. **Pastos y Forrajes**, v. 15, p. 77-87, 1992.

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

ORSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal Animal Science**, v. 63, p. 1624–1633, 1986.

ØRSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. B.; MOULD, F. The use of the nylon bag technique for evaluation of feedstuffs. **Tropical. Animal. Production.**, v. 5, p. 195-213, 1980.

ORTOLANI, E. L. Considerações técnicas sobre o uso da sonda esofágica na colheita do suco de rúmen de bovinos para mensuração do pH. **Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 33, n. 2, p. 269-275, 1981.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: A review. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 275–286, 1998.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Digest passage and microbial protein synthesis. In: falta autor do livro. **Plants**. Rockville: Am. Soc. of Plant Physioly., 2000. p. 206-222.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Digest passage and microbial protein synthesis. In: MILLIGAN, L. P. (Ed.). **Control on digestion and metabolism in ruminants**. Englewood Cliffs, Prentice Hall, 1986. ch. 8, p. 196-223.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Fermentación ruminal. In: CHURCH, D. C. (Ed.). **El rumiante fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 159-190.

OWENS, F. N.; ZINN, R. A.; KIM, Y. K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1634-1648, 1986.

PAES, M. C. D. **Manipulação da composição química do milho**: impacto na indústria e na saúde humana. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/milho/index.htm>. Acesso em: 13 nov. 2013.

PATTON, R. A.; PATTON, J. R.; BOUCHER, S. E. Defining ruminal and total-tract starch degradation for adult dairy cattle using in vivo data. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 765–782, 2012.

PEDROSO, A. F. **Aditivos químicos e microbiológicos no controle de perdas e na qualidade de silage de cana-de-açúcar (*Sccharum officinarum* L.)**. 2003. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F. LOURES, S. D. R.; IGARASI, M. S.; COELHO, R. M.; PACKER, I. H.; HORII, J.; GOMES, L. H. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, v. 62, p. 427-432, 2005.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; RODRIGUES, A. A. SANTOS, F. A. P.; MOURÃO, G. B.; JÚNIOR, W. B. Performance of dairy cows fed rations produce with sugarcane silages treated with additives of fresh sugarcane. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 1889-1893, 2010.

- PEREIRA, M. N.; VON PINHO, R. G.; BRUNO, R. G.; CELESTINE, G. A. Ruminant degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 4, p. 358-363, 2004.
- PEREIRA, M. N.; PINHO, R. G., VON; B, R, G, da S.; CALESTINE, G, A. Ruminant Degradability of Hard or Soft Texture Corn Grain at Three Maturity Stage. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 4, p. 358-363, 2004.
- PETTERSON, K. L.; LINDGREN, S. The influence of the carbohydrate fraction and additives on silage quality. **Grass Forrage Science**, v. 45, p. 223-233, 1990.
- PHILIPPEAU, C.; CHAMPION, M.; MICHALET-DOREAU, B. Influence du genotype et du stade de maturite sur la digestion ruminale de l'amidon de mais recolte au stade ensilage. In: SYMPOSIUM ON SILAGE MAIZE, 1996, Nantes. **Annales...** Nantes, 1996. p. 379-380.
- PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and stage of maturity on rate of ruminal starch degradation. **Animal Feed Science Technology**, v. 68, p. 25-35, 1997.
- PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on in situ degradation of starch in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2178-2184, 1998a.
- PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOUREAU, B. Influence of the biochemical and physical characteristics of the maize grain on ruminal starch degradation. **Journal Agricola. Food Chemistry**, v. 46, p. 4287-4291, 1998b.
- PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. **Journal Science Food Agriculture**, v. 80, p. 404-408, 2000.
- PIRES, A. V.; SUSIN, I.; SIMAS, J. M. C.; SANTOS, F. A. P.; MENDES, C. Q.; OLIVEIRA JUNIOR, R. C.; FERNANDES, J. J. R.; ARAUJO, R. C. Substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar e caroço de algodão nos parâmetros ruminais, síntese de proteína microbiana e utilização dos nutrientes em vacas lactantes. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 50-58, 2008.
- PIWONKA, E. J.; FIRKINS, J. L.; HULL, B. L. Digestion in the rumen and total tract of forage-based diets with starch or dextrose supplements fed to holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 6, p. 1570-1579, 1994.
- PLASCENCIA, A.; ZINN, R. A. Influence of flake density on the feeding value of steam processed corn in diets for lactating cows. **Journal Animal Science**, v. 74, p. 310-316, 1996.
- PONS, A.; BRESOLIN, M. A cultura do milho. **Trigo e Soja**, Porto Alegre, n. 57, p. 6-31, 1981.
- PRATT, R. C.; PAULIS, J. W.; MILLER, K.; NELSEN, T.; BIETZ, J. A. Association of zein classes with maize kernel hardness. **Cereal Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 162-167, 1995.

PRATT, R. C.; PAULIS, J. W.; MILLEK, K.; NELSEN, T.; BIETZ, J. A. Association of zein classes with maize kernel hardness. **Cereal Chemistry**, v. 72, p. 162-167, 1995.

PRESTON, T. R.; CARCANO, C.; ALVAREZ, F. J.; GUTIERREZ, D. G. Rice polishings as a supplement in a sugar cane diet: effect of level of rice polishings and of processing the sugar cane by derinding or chopping. **Tropical Animal Production**, v. 1, p. 150-161, 1976.

PRIGGE, E. C.; JOHNSON, R. R.; OWENS, F. N.; WILLIAMS, D. Soluble nitrogen and acid production of high moisture corn. **Journal Animal Science**, v. 42, p. 490, 1976.

QUEIROZ, O. C. M.; NUSSIO, L. G.; SCHIMIDT, P. RIBEIRO, J. L.; SANTOS, M. C.; ZOPOLLATTO, M. Silagem de can-de-açúcar comparada com as fontes tradicionais de volumoso suplementares no desempenho de vacas de alta produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 358-365, 2008.

RIVERA, A. A. C. **Análise agrônômica e econômica de sistema de produção de milho**. 2006. 4 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. MG., Viçosa, 2006.

ROOKE, J. A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. p. 251-304.

ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R. L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1607-1623, 1986.

ROSSI JÚNIOR, P.; PEREIRA, J. R. A. **Manual prático de avaliação nutricional de alimentos**. Piracicaba: Fealq, 1995. 34 p.

RUSSELL, J. B.; SNIFFEN, C. J.; VAN SOEST, P. J. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 763, 1983.

SAN EMETERIO, F., REIS, R. B., CAMPOS, W. E., SATTER, L. D. Effect of Coarse or Fine Grinding on Utilization of Dry or Ensiled Corn by Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n.12 p. 2839-2848, 2000.

SANTOS, E.P.; HUBER, J.T.; THEURER, C.B., NUSSIO, L. G., TARAZON, M., SANTOS, F. A. Response of lactating dairy cows to steam flaked sorghum, steam flaked corn or steam-rolled corn and protein sources of differing degradability. **Journal Dairy Science**, v.82, n. 4, p.728-737, 1999.

SANTOS, S. A. ; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. RUAS, D. J. R. M.; AMARAL, P. M. Different forage source for F1 Holstein X Gir dairy cow. **Livestock Science**, v. 142, n. 1, p. 48-58, 2011. Disponível em: <http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/livsci/article/PIIS1871141311002381/abstract>. Acesso em: 08 ago 2013.

SHABI, Z.; BRUCKENTAL, I.; ZAMWELL, S.; TAGARI, H.; ARIELI, A. Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1252-1260, 1999.

SHEWRY, P. R.; TATHAM, A. S. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. **Biochemical Journal**, v. 267, p. 1-12, 1990

SHEWRY, P. R. The synthesis, processing and deposition of gluten proteins in the developing wheat grain. **Cereal Foods World**, v. 44, p. 587-589, 1999.

SHEWRY, P. R.; HALFORD, N. G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 947-958, 2002.

SHOTWELL, M. A.; LARKINS, B. A. The biochemistry and molecular biology of seed storage proteins. **The Biochemistry of Plants: a Comprehensive Treatise**, v. 15, p. 297-345, 1989.

SILVA, J. A. S.; BORGATTI, L. M. O.; MEYER, P. M. MARINO, C. T., RODRIGUES, P. H. M. Efeitos do teor de carboidratos solúveis sobre as características da silagem de cana de açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 8, p. 1375-1382, 2008

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

SIMAS, J. M. C.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; SANTOS, F. A. P.; MENDES, C. Q.; OLIVEIRA JR., R. C.; FERNANDES, J. J. R. Efeitos de fontes e formas de processamento do amido na utilização de nutrientes e parâmetros ruminais de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1128-1134, 2008.

SKLAN, D.; KEIM, M.; MOALLEM, U.; FOLMAN, Y. Effect of dietary calcium soaps on milk yield, bodyweight, reproductive hormones and fertility in first parity and older cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1652-1660, 1994.

SODERLUND, S.; OWENS, F. Cor hybrid processing method considerations. In: CATLLLE GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, 1., 2006, Oklahoma. **Proceedings...** Oklahoma: CGP, 2006. p. 62-72.

SNIFFEN, C. J. Nitrogen utilization as related to solubility of NPN and protein in feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 1974, New York. **Proceedings....** New York: Cornell Univ., Ithaca, 1974. p. 12.

SOLOMONS, T. W. G. **Organic chemistry**. [S.l]: University of Florida, 1992. v. 1.

SPICER, L. A.; THEURER, C. B.; SOWE, J.; NOON, T. H. Ruminant and post-ruminant utilization of nitrogen and starch from sorghum grain, corn and barley based diets for beef steers. **Journal Animal Science**, v. 62, p. :521-530, 1986.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **System for Microsoft Windows**: release 8.2. Cary: SAS, 2002.

- STERM, M. D.; HOOVER, W. H. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review. **Journal. Animal. Science**, v. 49, p.1590–1603, 1979.
- STROBEL, H. J.; RUSSEL, J. B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 11, p. 2941-2947, 1986.
- SUKSOMBAT, W.; JUNPANICHCHAROEN, P. Feeding of sugar cane silage to dairy cattle during the dry season. Asian-Australasian **Journal of Animal Science**, v. 18, p. 1125-1129, 2005.
- TANIGUCHI, K.; SUNADA Y.; OBITSU, T. Starch digestion in the small intestine of sheep sustained by intragastric infusion without protein supply. **Animal Science Technology Japan**, v. 64, p. 892, 1993.
- TAYLOR, C. C.; ALLEN, M. S. Corn grain endosperm type and brown midrib 3 corn silage: Feeding behavior and milk yield of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 1425–1433, 2005.
- TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.
- THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1649–1662, 1986.
- THEURER, C. B.; HUBER, J. T. DELGADO-ELORDUY, A.; WANDERLEY, R. Invited review: summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1950–1959, 1999.
- THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1649-1662, 1986.
- TIAGO, L. R. L.; GILL, M. **Consumo voluntário**: fatores relacionados com a degradação e passagem da forragem pelo rúmen. Campo Grande: EMBRAPA-Gado de Corte, 1993. 65 p. (Documentos, 43).
- TOSI, H.; JOBIM, C. C. Conservação de forragens: silagem. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; BLUCHER, E. **Biociencia industrial: biotecnologia da produção de alimentos**. [S.l]: Blücher Ltda, 2001. p. 491-505.
- TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A. Dietary supplementation of ruminal diets with *na Aspergillus oryzae* α -amilase. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 136-150, 2008.
- VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I.; CHIZZOTI, M. L. Descrever os demais autores Otimização de dietas à base de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2., 2008, Viçosa. **Anais... Viçosa – MG. UFV,DZO**, 2008. 394 p.

VALVASORI, E.; LUCCI, C. S.; PIRES, F. L.; ARCARO, J. R. P.; ARCARO, I. Jr. Silagem de cana-de açúcar em substituição a silagem de sorgo granífero para vacas leiteiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35 n. 3 p. 139 -142, 1998.

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

VAN SOEST, P. J.; MASON, V. C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1/3, p. 45-53, 1991.

WANG, T. L.; BOGRACHEVA, T. Y.; HENDLEY, C. L. Starch: as simple as A, B, C? **Journal Experimental Botanical**, v. 49, p. 481-502, 1998.

WILKERSON, V. A.; GLENN, B. P.; McLEOD, K. R. Energy and nitrogen balance in lactating cows fed diets containing dry or high moisture corn in either ground or rolled form. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 10, p. 2487-2496, 1997.

ZEOULA, L. M.; CALDAS NETO, S. F. Recentes avanços em amido na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE LEITE, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p. 249-284.