



JOSE DAVID GARCES URREGO

**EFEITOS DA PRESENÇA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NA
SILAGEM DE GRÃOS DE MILHO REIDRATADOS
SOBRE O METABOLISMO E PARÂMETROS RUMINAIS
DE NOVILHAS NELORE**

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2022

JOSE DAVID GARCES URREGO

**EFEITOS DA PRESENÇA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NA
SILAGEM DE GRÃOS DE MILHO REIDRATADOS
SOBRE O METABOLISMO E PARÂMETROS RUMINAIS
DE NOVILHAS NELORE**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Lavras, como parte das exigências
do programa de pós-graduação em Zootecnia
para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Thiago Fernandes Bernardes
Orientador

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2022

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Urrego, Jose Garces.

Efeitos da presença de ácidos orgânicos na silagem de grãos de milho reidratados sobre o metabolismo e parâmetros ruminais de novilhas nelore / Jose Garces Urrego. - 2022.

41 p.

Orientador(a): Thiago Fernandes Bernardes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Metabolismo. 2. Acidos. 3. Alto amido. I. Bernardes, Thiago Fernandes. II. Título.

JOSE DAVID GARCES URREGO

**EFEITOS DA PRESENÇA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NA
SILAGEM DE GRÃOS DE MILHO REIDRATADOS SOBRE O
METABOLISMO E PARÂMETROS RUMINAIS DE NOVILHAS
NELORE**

**EFFECTS OF ACIDS IN RECONSTITUTED GRAIN SILAGE ON
THE METABOLISM AND RUMINAL FERMENTATION OF
NELLORE HEIFERS**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Lavras, como parte das exigências
do programa de pós-graduação em Zootecnia
para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada em 07 de março de 2022
Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes/UFLA
Prof. Dr. Erick Dárlisson Batista/UFLA
Prof. Dr. René Patiño Pardo/ UNISUCRE

Thiago Bernardes

Thiago Fernandes Bernardes

Orientador

A Deus por ter-me abençoado
sempre desde que eu comecei
este caminho de me tornar cada
dia melhor.

Dedico

Agradecimentos

Agradeço a Deus por tudo o valor e coragem que me deu para seguir cada dia no proposto desde o dia que cheguei no Brasil.

A minha família que sempre acreditaram em mim, que sempre senti o apoio por parte deles, e nunca me deixaram desistir de meus sonhos.

Ao professor Thiago Fernandes Bernardes, por ter aceitado ser meu orientador, por me ajudar enriquecer meu conhecimento cada dia acadêmico e como pessoa.

Ao professor Erick Darlisson Batista, por ter atenção e disponibilidade sempre para as dúvidas deste projeto.

Aos professores do DZO da UFLA, pela disposição de sempre aclarar dúvidas do projeto e pelo ensinado até o dia de hoje.

A todos os membros do grupo NEFOR, em especial ao grupo de “Conservação” por ter sido parte fundamental para a realização deste projeto.

A todos os colegas que sempre tiveram disponibilidade de me ajudar em todas as fases do projeto: Jéssica Gusmão, Marcus Cardoso, Luciana Lima, Alvaro Chellone, Hugo Ribeiro, Elizanne, Luiza Souza, dentre outros.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFLA pela oportunidade que me deu para realizar o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de mestrado.

A Universidade Federal de Lavras e todos seus funcionários pelos serviços prestados.

Resumo

Objetivou-se avaliar o uso de silagem de grãos de milho reidratados, com ou sem a adição de ácidos orgânicos na ensilagem, sobre o metabolismo e parâmetros ruminais de novilhas Nelore. Foram utilizadas 6 novilhas da raça Nelore, com peso inicial médio de 310 kg, fistuladas no rúmen. O experimento foi conduzido e analisado segundo delineamento em quadrado Latino 2×2 , com duas dietas e dois períodos experimentais, foram realizados 3 QL simultâneos com duração de 48 dias, os quais foram repetidos mais duas vezes com a finalidade de ao final do período experimental gerar 9 QL 2×2 . Os tratamentos avaliados foram: silagem de grãos de milho reidratados sem adição de ácidos orgânicos na ensilagem (Controle) e silagem de grãos de milho reidratados com a adição de ácidos orgânicos na ensilagem (SMRA). Nos dois tratamentos foi ofertado a silagem de grãos com uma inclusão na dieta de 47% em base da MS, a fonte de fibra utilizada na dieta foi bagaço de cana de açúcar com uma inclusão de 14,5% em base da MS, o teor da dieta de PB foi de (14,48%) e amido de (50,32%) em base da MS. As coletas de fezes foram usadas para determinação dos coeficientes de digestibilidade total, coletas de líquido omasal utilizando marcador duplo (FDNi e CoEDTA) para determinação dos coeficientes de digestibilidade parcial da digesta, coletas de urina *spot* para determinar a excreção de derivados de purinas e o esvaziamento ruminal para determinar a taxa de passagem e de digestão da dieta, tudo isso repetido por 6 períodos. Foram observados efeitos ($P < 0,05$) de tratamento sobre o consumo de MS e, conseqüentemente, dos outros constituintes: MO, PB, EE, CNF, FDN, amido e a concentração dietética de nutrientes digestíveis totais (NDT), sendo maior no tratamento controle comparado com o tratamento SMRA. Os coeficientes de digestibilidade total da MS, MO, EE, FDN e NDT tiveram efeito ($P < 0,05$) de tratamento sendo maior no tratamento controle. Embora os animais do tratamento controle apresentaram maior consumo de PB, CNF e amido, a digestibilidade total destes não foram afetadas ($P > 0,05$). As taxas de passagem e digestão da MS, MO, PB, FDN e amido, não apresentaram efeito ($P > 0,05$) de tratamento. A concentração de N-NH₃ ruminal e nitrogênio uréico no soro não apresentaram um efeito ($P > 0,05$) de tratamento. Os valores médios de N-NH₃ foram de 11,57 e 12,40 mg/dL para controle e SMRA, respectivamente. De maneira semelhante, o pH ruminal não foi afetado ($P > 0,05$) pelo tratamento apresentando valor médio de 6,34. Houve maior ($P < 0,05$) consumo de nitrogênio e balanço de nitrogênio para o tratamento controle comparado com o tratamento SMRA. Contudo, não foi observado um efeito

($P > 0,05$) do tratamento sobre a sínteses de compostos nitrogenados, a sínteses de proteína microbiana e a eficiência de produção microbiana. A adição de ácidos orgânicos na silagem de grãos de milho reidratados levou a uma diminuição do consumo de MS e conseqüentemente dos demais nutrientes da dieta sem afetar a digestão total destes, contudo a adição de ácidos orgânicos não mostrou alterações nos parâmetros ruminais nem metabolismo dos animais avaliados.

Palavras-chaves: Metabolismo, Ácidos, Alto amido.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the use of rehydrated corn grain silage, with or without the addition of organic acids in the silage, on the metabolism and ruminal parameters of Nellore heifers. Six Nellore heifers, with an average initial weight of 310 kg, fistulated in the rumen were used. The experiment was conducted and analyzed according to a 2 * 2 Latin square design, with two diets and two experimental periods, 3 simultaneous QLs were performed with a duration of 48 days, which were repeated twice more with the purpose of at the end of the experimental period. generate 9 QL 2 * 2. The treatments evaluated were: silage of rehydrated corn grains without addition of organic acids in the silage (Control) and silage of corn grains rehydrated with the addition of organic acids in the silage (SMRA). In both treatments, grain silage was offered with an inclusion in the diet of 47% on a DM basis, the fiber source used in the diet was sugarcane bagasse with an inclusion of 14.5% on a DM basis, the of the diet was CP (14.48%) and starch (50.32%) on a DM basis. Feces collections were used to determine the total digestibility coefficients, omasal fluid collections using a double marker (NDFi and CoEDTA) to determine the partial digestibility coefficients of digesta, spot urine collections to determine the excretion of purine derivatives and the ruminal emptying to determine the rate of passage and digestion of the diet, all of this repeated for 6 periods. Effects ($P < 0.05$) of treatment were observed on the consumption of DM and, consequently, of the other constituents: MO, CP, EE, NFC, NDF, starch and the dietary concentration of total digestible nutrients (TDN), being higher in the control treatment compared to the SMRA treatment. The total digestibility coefficients of DM, OM, EE, NDF and TDN had an effect ($P < 0.05$) of treatment being greater in the control treatment. Although the animals in the control treatment showed higher consumption of CP, NFC and starch, their total digestibility was not affected ($P > 0.05$). The passage and digestion rates of DM, MO, CP, NDF and starch showed no treatment effect ($P > 0.05$). The concentration of ruminal N-NH₃ and urea nitrogen in the serum did not show a treatment effect ($P > 0.05$). Mean N-NH₃ values were 11.57 and 12.40 mg/dL for control and SMRA, respectively. Similarly, ruminal pH was not affected ($P > 0.05$) by the treatment, with a mean value of 6.34. There were higher ($P < 0.05$) nitrogen consumption and nitrogen balance for the control treatment compared to the SMRA treatment. However, there was no effect ($P > 0.05$) of the treatment on the synthesis of nitrogen compounds, the synthesis of microbial protein and the efficiency of microbial production. The addition of organic

acids in the silage of rehydrated corn grains led to a decrease in the consumption of DM and consequently of the other nutrients in the diet without affecting their total digestion, however the addition of organic acids did not show changes in the ruminal parameters or metabolism of the animals evaluated.

Keywords: Metabolism, Acids, High starch.

Informe Gráfico.

Criado por **Jose David Garces.**

O uso de ácidos orgânicos na ensilagem de grãos de milho reidratados sobre os parâmetros ruminais e metabolismo.

CONTROLE

(Silagem de grãos de milho reidratados)

SMRA

(Silagem de grãos de milho reidratados com adição de ácidos)

Dietas



Bagaço de cana de açúcar



Grão de milho moído



Grão de milho reidratado

Resultados

Controle

- Maior consumo de MS e demais nutrientes
- Maior digestibilidade total da MS e demais nutrientes

SMRA

- Menor consumo de MS e demais nutrientes
- Melhor balanço de nitrogênio
- A adição de ácidos orgânicos não alterou os parâmetros ruminais.

Sumário

1. Introdução	13
2. Referencial teorico	16
2.1 Silagem de milho reidratado	16
2.2 Fontes de amido de alta degradação.....	17
2.3 Utilização de aditivos na silagem de grãos	18
2.4 Utilização de aditivos na silagem de grãos.....	18
3. Materiais e métodos.....	19
3.1 Animais e manejo.....	19
3.2 tratamentos.....	19
3.3 Procedimentos Experimentais e coletas de amostras.....	20
3.4 Consumo de matéria seca.....	20
3.5 Coleta de sangue, coleta de fezes e coleta de urina pelo método <i>spot</i>	21
3.6 Coletas de digesta omasal.....	22
3.7 Nitrogênio amoniacal, AGCC, pH, taxa de passagem, degradação e volume ruminal.....	23
3.8 Eficiência de produção microbiana.....	24
3.9 Análises químicas e análises estatísticas.....	25
4. Resultados e discussão.....	26
5. Conclusão.....	37
6. Referências bibliográficas.....	38

1. Introdução

O confinamento de gado de corte no Brasil, segundo a ABIEC (2019), tem participação de 12,6% no abate total, que resulta em 5,58 milhões de bovinos. No confinamento, o custo com nutrição é o segundo maior, superado apenas pelo custo de reposição. A redução no custo com a alimentação pode ser obtida reduzindo o custo dos ingredientes da dieta, aumentando a digestibilidade dos mesmos e utilizando alimentos mais completos, que são os alimentos que melhoram a logística no confinamento substituindo dois ou mais alimentos (Lopes *et al.*, 2011).

O uso de dietas de alto amido em confinamento tem se tornado uma prática comum na terminação de bovinos de corte (Cho *et al.*, 2014). O milho é utilizado em 100% dos confinamentos brasileiros com o nível de inclusão mais utilizado de 51 a 60% com base na matéria seca. (Pinto & Millen, 2018). Entretanto, seu aproveitamento depende dos métodos de processamento a que é submetido (Theurer, 1986). Segundo Hoffman e Shaver (2009), os principais fatores que determinam o potencial de digestibilidade do milho são o tamanho de partícula, o teor de umidade e a vitreosidade do endosperma, sendo esta definida pelo teor de prolamina. O tamanho de partícula é determinado pela mensuração através do sistema de peneiras (Baker e Herman, 2002). De acordo com Owens e Basalan (2013), o aumento do tamanho de partícula do grão proporciona a redução na digestibilidade do amido no trato digestório total, sendo, portanto, fator fundamental no aproveitamento deste nutriente.

Nesse contexto o processamento dos grãos visa maximizar o aproveitamento do amido, proporcionando maior disponibilidade energética, uma vez que este é um dos principais limitantes na produção de bovinos de corte (Zinn *et al.*, 2002). Alternativas ao milho grão tradicional é a confecção da silagem de grãos úmidos e a silagem de grãos reidratados (Santos, 2000). A silagem de grãos de milho reidratados (ou reconstituídos) é o produto da adição homogênea de água aos grãos, maduros moídos para obter em torno de 35% de umidade na ensilagem (Ferrareto *et al.*, 2018). A umidade no grão de milho ensilado propicia, durante a fase fermentativa, a ocorrência de proteólise da matriz proteica, podendo resultar em maior disponibilidade de nutrientes. Além disso, pode possibilitar o aumento da digestibilidade do amido, melhorando dessa forma a eficiência no uso do grão de milho reidratado ensilado, assegurando melhor desempenho e otimização quando do uso em dietas de bovinos (Goodrich; Byers; Meiske, 1975; Henrique *et al.*, 2007). Corroborando com esta hipótese, Philippeau e Michalet-Doreau

(1997) relataram que a ensilagem de grãos aumenta a degradação ruminal de amido e que esse processo de conservação poderia aumentar a acessibilidade de grânulos de amido por microrganismos do rúmen, uma vez que as proteínas hidrofóbicas são parcialmente degradadas. Grande parte do interesse ao uso de grãos conservados na dieta dos animais estão relacionadas a melhoria da eficiência alimentar dos animais obtidos com o aumento da digestibilidade do amido após a ensilagem (Santos *et al.*, 2011).

Por outro lado, estudos tem mostrado que silagens de grãos de milho sem aplicação de aditivos possuem baixa concentração de produtos de fermentação e são altamente propensas à deterioração aeróbia nos pós abertura. Valores de pH na ordem de 4,2 a 4,5, concentrações de ácido lático entre 1 e 2% da MS, concentrações de ácido acético na ordem de 0,5 % da MS, e concentrações de etanol equivalentes a 2 % da MS são característicos desse tipo de silagem (Kung *et al.* 2018). Além disso, estabilidade aeróbia inferior a 40h podem ser observados nesse tipo de silagem sem o uso de aditivos (KUNG *et al.*, 2007). Quando exposto a ação do oxigênio, microrganismos como leveduras utilizam o ácido lático e amido presentes nessa silagem como substrato para seu crescimento e multiplicação (Woolford, 1990; Pahlow *et al.*, 2003). Subsequentemente, o aumento do pH provocado pelo consumo de ácido lático estimula o crescimento de outros microrganismos espoliadores, como fungos, resultando em deterioração dos nutrientes, perdas de matéria seca, redução do consumo e pior desempenho dos animais (Hoffman & Ocker, 1997; Gerlach *et al.*, 2014).

Várias são as opções para se tentar contornar esse problema, incluindo o uso de aditivos químicos, contendo ácidos orgânicos (Baron *et al.*, 2003). Os ácidos orgânicos oriundos da indústria química ou do metabolismo de certas bactérias, parece ter um grande potencial para ser usado como aditivo em silagens de grãos devido a sua capacidade de inibição do crescimento de microrganismos deterioradores (Brith & Hubber, 1975; Moon, 1983; Baron *et al.*, 2003). Mesmo em baixas concentrações, os ácidos atuam na célula das leveduras inibindo o transporte de aminoácidos, ou provocando um desbalanço na troca catiônica das células desses microrganismos, o que leva a inibição do crescimento e multiplicação desses microrganismos (Freese *et al.*, 1973).

Esses podem ser uns dos benefícios que pode se obter na silagem, mais esta adição na silagem destes ácidos pode ter efeito sobre o animal? Várias são as causas que podem influenciar o consumo de matéria seca dos ruminantes, uma dessas como muitos estudos

relatam é a quantidade de AGV produzidos e adsorvidos no rúmen, os quais tem uma influência direta no consumo de MS do animal mais especificamente o ácido propiônico. Elliot et al., 1985 relataram que a infusão de propionato na veia mesentérica de novilhos reduziu o consumo de ração. Por sua parte, Anil e Forbes (1980), relataram redução do consumo em mais de 80% em ovelhas com infusão de propionato na veia porta em comparação com os animais do tratamento controle.

Além de ter o potencial de melhorar a estabilidade da silagem e o efeito na redução do consumo, se desconhece se a adição destes ácidos na silagem pode ter influência no metabolismo animal.

Neste sentido objetivou-se avaliar o uso de silagem de grãos de milho reidratados, com ou sem a adição de ácidos orgânicos na ensilagem, sobre o metabolismo e parâmetros ruminais de novilhas Nelore.

2. Referencial teórico

2.1 Silagem de milho reidratado

As alternativas de ensilagens de grãos, como silagem de grãos úmidos, silagem de milho reidratado, ou silagens de espigas, embora já usadas desde décadas passadas, principalmente em países do hemisfério norte (Beeson & Perry, 1958), vem ganhando atenção de produtores, nutricionistas e pesquisadores no Brasil nos últimos anos (Bernardes & Castro, 2019).

A silagem de grãos de milho reidratados (ou reconstituídos) é o produto da adição homogênea de água aos grãos, maduros moídos para obter em torno de 35% de umidade na ensilagem (Ferrareto *et al.*, 2018). Essa opção tem se tornado popular entre os produtores de leite e de corte, principalmente devido à alta digestibilidade do amido quando comparado ao milho moído seco (Daniel *et al.*, 2019).

A umidade no grão de milho ensilado propicia, durante a fase fermentativa, a ocorrência de proteólise da matriz proteica, podendo resultar em maior disponibilidade de nutrientes. Além disso, pode possibilitar o aumento da digestibilidade do amido, melhorando dessa forma a eficiência no uso do grão de milho reidratado ensilado, assegurando melhor desempenho e otimização quando do uso em dietas de bovinos (Goodrich; Byers; Meiske, 1975; Henrique *et al.*, 2007). Corroborando com esta hipótese, Philippeau e Michalet-Doreau (1997) relataram que a ensilagem de grãos aumenta a degradação ruminal de amido e que esse processo de conservação poderia aumentar a acessibilidade dos grânulos de amido pelos microrganismos do rúmen, uma vez que as proteínas hidrofóbicas são parcialmente degradadas.

Grande parte do interesse ao uso de grãos conservados na dieta dos animais estão relacionadas a melhoria da eficiência alimentar dos animais obtidos com o aumento da digestibilidade do amido após a ensilagem (Santos *et al.*, 2011).

2.2 Fontes de amido de alta degradação

As dietas de confinamento no Brasil têm utilizado altas concentrações de amido. A recomendação mais utilizada é de 51 a 60% com base na matéria seca, sendo que 82% utilizam o milho seco moído (Silvestre & Millen, 2021). Com a utilização destas dietas

com alto amido, o objetivo é ter a máxima digestão do amido enquanto evita a acidose clínica, por aumentar a eficiência de utilização da dieta (Stock & Erikson, 2006).

A digestão do amido ocorre no rúmen, consequência da ação dos microorganismos ruminais, e no intestino delgado sob a ação de enzimas pancreáticas e intestinais. Em dietas com baixa quantidade de amido, a digestão ocorre quase totalmente pelos microrganismos do rúmen. Em dietas de alto amido, grande parte do amido digere no intestino delgado (Swanson *et al.*, 2002).

O local de digestão do amido é consequência da taxa de fermentação ruminal no grão de milho, que comparado com outras fontes de amido tem lenta taxa de fermentação (Stock & Erickson, 2006). De acordo com revisão de Zinn *et al.* (2002), os métodos de processamento basicamente envolvem redução do tamanho de partícula ou mudança física, com ou sem adição de água ou vapor (tratamentos térmicos). A moagem ou a laminação do milho, com ou sem adição de água, são os métodos mais comumente utilizados para a alimentação de ruminantes, podendo ser empregado mais de um método para melhorar a eficiência sobre a digestibilidade.

No processo de digestão ruminal, as enzimas microbianas responsáveis pela digestão ruminal do amido são as α -amilases, as isoamilases, glucoamilases e as β – amilases. São enzimas extracelulares de bactérias, podendo ocorrer também interações entre bactérias no processo de digestão (Antunes *et al.*, 2011).

O amido de alta degradação proveniente da ensilagem, aumenta a taxa de fermentação ruminal devido à ação proteolítica, que degrada a matriz proteica que envolve os grânulos de amido, aumentando a superfície de contato de ação da microbiota ruminal (Junges *et al.*, 2017). Devido aos benefícios zootécnicos e econômicos, houve expansão da utilização de dietas que utilizam unicamente grãos com amidos com alta degradação.

2.3 Utilização de aditivos na silagem de grãos

Estudos tem mostrado que silagens de grãos de milho sem aplicação de aditivos possuem baixa concentração de produtos de fermentação e são altamente propensas à deterioração aeróbia nos pós abertura. Valores de pH na ordem de 4,2 a 4,5, concentrações de ácido lático entre 1 e 2% da MS, concentrações de ácido acético na ordem de 0,5 % da MS, e concentrações de etanol equivalentes a 2 % da MS são característicos desse tipo de silagem (Kung *et al.* 2018).

Além disso, estabilidade aeróbia inferior a 40h podem ser observados nesse tipo de silagem sem o uso de aditivos (Kung *et al.*, 2007). Quando exposto a ação do oxigênio, microrganismos como leveduras utilizam o ácido láctico e amido presentes nessa silagem como substrato para seu crescimento e multiplicação (Woolford, 1990; Pahlow *et al.*, 2003). Subsequentemente, o aumento do pH provocado pelo consumo de ácido láctico estimula o crescimento de outros microrganismos espoliadores, como fungos, resultando em deterioração dos nutrientes, perdas de matéria seca, redução do consumo e pior desempenho dos animais (Hoffman & Ocker, 1997; Gerlach *et al.*, 2014).

Várias são as opções para se tentar contornar esse problema, incluindo o uso de aditivos químicos, contendo ácidos orgânicos (Baron *et al.*, 2003). Os ácidos orgânicos oriundos da indústria química ou do metabolismo de certas bactérias, parece ter um grande potencial para ser usado como aditivo em silagens de grãos devido a sua capacidade de inibição do crescimento de microrganismos deterioradores (Brith & Hubber, 1975; Moon, 1983; Baron *et al.*, 2003). Mesmo em baixas concentrações, os ácidos atuam na célula das leveduras inibindo o transporte de aminoácidos, ou provocando um desbalanço na troca catiônica das células desses microrganismos, o que leva a inibição do crescimento e multiplicação desses microrganismos (Freese *et al.*, 1973).

Além dos benefícios sobre a preservação das silagens, a adição de ácidos também pode contribuir com o aporte de energia do animal, uma vez que os ácidos presentes na silagem no momento de utilização pelos animais também podem ser utilizados como substrato energético no rúmen. Quando consumidos pelo animal, o ácido láctico e o ácido propiônico são rapidamente metabolizados pelo rúmen e convertidos a propionato, já o ácido acético é rapidamente metabolizado a acetato (Weiss *et al.*, 2003; Daniel *et al.*, 2013).

3. Materiais e métodos

O experimento foi conduzido no setor de bovinocultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Entre os meses de outubro de 2020 e abril de 2021.

3.1 Animais e manejo

Foram utilizadas 6 novilhas da raça nelore com peso corporal (PC) inicial médio de 310 kg e com idade média de 24 meses, fistuladas no rúmen. Os animais foram identificados, pesados, tratados contra endo e ectoparasitas e alojadas em baias

individuais e água a vontade, até a realização da cirurgia para colocação de cânula ruminal. Após a cirurgia, foi conferido aos animais um período de 60 dias para recuperação total dos processos cirúrgicos. Os animais foram mantidos em baias individuais semicobertas com dimensão de 3 m * 4 m, piso em concreto, bebedouros coletivos a cada duas baias. Neste período os animais foram tratados com uma dieta basal com silagem de milho e um pouco de concentrado as 0700 h e 1600 h, com ingestão de água *ad libitum*, como era uma dieta só para manutenção se aumentava a quantidade fornecida a cada 3 dias.

Após o período de recuperação dos animais, estes foram distribuídos aleatoriamente aos tratamentos experimentais, onde foi feita uma adaptação escalonada de 15 dias ao nível de energia da dieta, os 5 primeiros dias era fornecido 37,5% de silagem de grão de milho reidratado e 30% de bagaço, chegando na dieta final com 47,5% de inclusão de silagem de grão de milho reidratado e 14,5% de bagaço.

3.2 Tratamentos

Os tratamentos avaliados consistiram no fornecimento da silagem de grãos de milho reidratados sem (controle, CON) e com a adição de ácidos orgânicos (SMRA). A silagem de grãos de milho reidratados sem adição de ácidos na silagem, ou qual foi feito em bombonas de 200 litros, o milho era moído na fábrica de rações utilizando peneiras de 8 mm, depois era colocado em um vagão misturador com balança, fazendo o cálculo para adicionar um 35% de água, após a adição da água se deixava misturar por uns 30 minutos e era levado até o lugar onde foi ensilado, a silagem foi feita manualmente, cuidando que todas as bombonas utilizadas tiveram uma densidade similar, o tempo mínimo para a abertura das bombonas foi de 60 dias, e fornecido em um 47,5% de inclusão na dieta final.

Silagem de grãos de milho reidratado com adição de ácidos orgânicos (SMRA), neste tratamento foi utilizada a mesma dieta, a diferença do tratamento controle neste tratamento no processo da ensilagem foi adicionado um blend de ácidos orgânicos de nome comercial Fylax, contendo (ácido láctico, ácido sorbico, propionato de amônio, ácido propiônico, ácido acético e ácido fórmico) a uma dose de 2 litros por tonelada de reidratado, este foi adicionado no vagão misturador para uma maior distribuição dos ácidos no material, foi utilizado também uma umidade de 35% e ensilado em bombonas de 200 litros.

Tabela 1 Composição percentual de ingredientes e composição química das dietas experimentais(%MS)

Item	Tratamentos ¹	
	CON	SMRA
Ingredientes		
Bagaço	14.5	14.5
Grão de milho moído	22.0	22.0
Grão de milho reidratado	47.5	47.5
Farelo de soja	11.9	11.9
Ureia	0.90	0.90
Núcleo mineral	3.20	3.20
Composição nutricional (%MS)		
MS	75.3	75.3
Cinzas	5.66	5.66
PB	14.48	14.48
PDR	8.47	8.47
PNDR	6.0	6.0
FDN	21.38	21.38
EE	3.91	3.91
Amido	50.32	50.32
NDT aparente	78.5	78.5

1. CON: Tratamento controle sem adição de ácidos orgânicos. SMRA: Silagem de grãos de milho reidratado com adição de ácidos na silagem, em uma taxa de 2 kg/ por tonelada de milho reidratado.

3.3 Procedimentos Experimentais e coletas de Amostras

Cada período experimental teve duração de 24 dias, sendo 14 dias para adaptação da dieta e 10 dias para coleta de amostras com um total de 6 períodos. As novilhas foram pesadas no início do experimento e final de cada período experimental.

3.4 Consumo de matéria seca

O consumo de ração foi quantificado do 13º ao 17º dia de cada período. Amostras representativas de cada alimento fornecido e sobras foram coletadas diariamente, armazenadas em sacos plásticos e misturadas manualmente no final de cada período para obter amostras combinadas por animal. Amostras de alimentos e sobras foram secas em estufa (55°C) e moídas em moinho de faca tipo Wiley (modelo 3, Arthur H. Thomas, Filadélfia, PA) para passar por uma peneira de 2 mm. Depois disso, metade de cada amostra moída foi triturada novamente para passar por uma peneira de 1 mm.

3.5 Coleta de sangue, coleta de fezes e coleta de urina pelo método *spot*

No 21º dia de cada período experimental, foram coletadas três amostras de sangue, imediatamente antes da alimentação (07:00h), 4 horas e 8 horas após a

alimentação, de todos os animais, via punção da veia jugular, utilizando-se tubo de ensaio contendo fluoreto de sódio, EDTA e gel separador e acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 2.700 g por 20 minutos, obtendo-se o soro sanguíneo, que foi armazenado a -20°C, para posteriormente análise quanto à sua concentração de glicose e nitrogênio ureico.

A coleta total de fezes foi conduzida, durante 3 dias consecutivos de cada período (15, 16 e 17 dias). As fezes foram coletadas diretamente no piso após a defecação espontânea, e armazenadas em baldes de 20 litros. Após o período de 24 horas de coleta, uma amostra das fezes era coletada imediatamente que o animal defecava para evitar a contaminação com o chão ou com urina do animal, ao final de cada dia de coleta, as fezes eram pesadas e homogeneizadas e uma amostra de 10% das fezes totais foi retirada, pesada, e pré-seca em estufa de ventilação forçada à 60°C por 72 horas, moídas conforme descrito para alimentos e sobras, sendo então elaborada uma amostra composta por animal, em cada período, com base no peso seco total referente a cada dia de coleta.

Do dia 15 até o dia 17, a urina foi coletada a partir de coletas spot (Pereira, 2009). foi coletada duas vezes por dia, no primeiro dia (15d) foi feita uma coleta imediatamente antes da alimentação (07h00) e outra 4 horas após alimentação (11h00), no dia 16 a primeira coleta foi as 8h00 e a segunda as 14h00, no dia 17 a primeira coleta foi feita as 10h00 e a segunda as 16h00, para ter uma maior representação das amostras durante o dia. Depois de cada coleta, 5 ml de cada amostra foi guardada junto com 20 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 20% para evitar perda de nitrogênio. Tendo uma composta por animal em cada período, ao final do período de coleta, as amostras de urina foram congeladas para determinação de ureia e nitrogênio total urinário.

Por meio da coleta de urina pode se determinar a excreção de derivados de purina dos animais, mais esta requer de coleta total de urina, uma técnica laboriosa como rotina experimental. Segundo Valadares et al., (1997), é possível simplificar a coleta de urina utilizando-se a excreção de creatinina na urina como indicador da produção urinária diária. Assim, pode-se coletar uma amostra isolada, denominada amostra spot, o que pode simplificar a estimativa da produção de urina.

Neste estudo foi usada a excreção de creatinina por unidade de peso para determinar o volume urinário diário dos animais.

No soro sanguíneo e na urina, foi avaliada a concentração de ureia, segundo o método diacetil modificado (kits comerciais). A concentração de N-ureico no soro (NUS) foi obtida pela concentração de ureia sérica, multiplicada por 0,466, correspondente ao teor de nitrogênio na ureia.

O cálculo do balanço de nitrogênio foi realizado determinando-se a quantidade média de nitrogênio ingerido durante o período de três dias de coleta de fezes e urina, descontando desse valor a quantidade excretada, via urina e fezes. O nitrogênio excretado foi calculado a partir da quantidade média de nitrogênio nas fezes e na urina, durante os dias de coleta. A concentração total de nitrogênio na urina, nas fezes e nos alimentos foi determinada pelo método INCT-CA N-001/1 (Detmann *et al.*, 2012). As amostras de sangue e urina foram analisadas quanto a seus teores de nitrogênio de acordo com o método INCT-CA N-001/1 (Detman *et al.*, 2012).

3.6 Coletas de digesta omasal

O fluxo da digesta para o omaso foi estimado com o método do marcador duplo, usando a FDN indigestível (FDNi) e Co-EDTA (Rotta *et al.*, 2014). Como um marcador de fluido, 5 g/d de Co-EDTA (420 mg de Co/d) foram divididos em 4 doses e infundidos na cânula ruminal em tempos equidistantes (0600, 1200, 1800 e 2400 h) do dia 13 ao 20 de cada período. Foram realizadas coletas omasais com o auxílio de bomba de vácuo e kitassato (Punia *et al.*, 1988) do 18º ao 20º dia, a cada 9 horas, iniciando uma hora antes do primeiro fornecimento da dieta, totalizando 8 coletas, as quais foram juntadas para compor uma amostra composta (Allen & Linton, 2007). No final da coleta de amostragem, 2.4 L da amostra composta foi homogeneizada e filtrada através de um filtro de náilon com abertura de malha de 100 µm (Sefar Nitex 100/44; Sefar, Heiden, Suíça) para separação da fase de partícula do fluido mais a fase de pequenas partículas. Amostras de digesta omasal relacionadas a cada fase (fase fluida mais fase de partículas pequenas e fase de partículas) foram reunidas (10 g de amostra pré-seca de cada vez) para cada animal e período.

As amostras de bagaço, concentrado, milho reidratado, fezes, digesta abomasal e de conteúdo ruminal (esvaziamento ruminal), processadas em peneiras de 2 mm, foram avaliadas em quanto ao teor de FDN indigestível (FDNi), utilizando-se sacos F57 (Ankom®) em procedimento de incubação *in situ* por 288 horas, segundo recomendações de Valente *et al.* (2011).

O fluxo abomasal de matéria seca foi estimado utilizando a FDNi como indicador da fase sólida e o Co-EDTA como indicador de fase líquida. Para isto, pressupôs-se que a FDNi constituiu indicador ideal, estando, portanto, concentrada apenas na fase sólida, ao passo que o Co-EDTA foi considerado indicador não ideal, concentrando-se na fase líquida, mas podendo ser parcialmente deslocado para a fase sólida. Os fatores de reconstituição da digesta foram obtidos segundo France & Siddons (1986).

3.7 Nitrogênio amoniacal, AGCC, pH, taxa de passagem, degradação e volume ruminal

Para avaliação do pH ruminal, nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), foram realizadas coletas pontuais de líquido ruminal no 21º dia de cada período. As amostras foram coletadas manualmente com 0, 1, 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação. Alíquotas de 50 mL de líquido ruminal foram filtradas e com a utilização de um potenciômetro digital de bancada, calibrado com soluções tampão de pH 4,0, 7,0 e 10,0. Após a avaliação do pH, foi transferida 40 ml da amostra para frasco e adicionada 1 mL de H₂SO₄ (50% vol/vol) e congeladas a -20°C para posterior análise quanto às concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal, segundo o método INCT-CA N-006/1 descrito por Detmann *et al.* (2012). Para avaliação de AGV uma alíquota de 2 ml foi retirada e congelada a -20°C, imediatamente.

Nos dias 22º e 24º foi executado um esvaziamento total do rúmen, 4 horas após o fornecimento da dieta e antes da alimentação, respectivamente, com o intuito de determinar o volume ruminal, a taxa de passagem e de digestão dos nutrientes, conforme técnica descrita por Allen & Linton (2007). Todo o conteúdo do rúmen foi removido via fistula e após as coletas o conteúdo foi devolvido ao rúmen. Todo o conteúdo ruminal foi separado a parte sólida e líquida, os quais foram pesados e amostrados para posteriores análises. Logo após a amostragem, a digesta foi novamente reconstituída e recolocada no rúmen dos respectivos animais. As amostras coletadas foram pesadas, secas em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, moídas em moinho de facas, com peneira contendo crivos de 1 mm, sendo então elaborada uma composta por animal em cada período. Dessa forma, as amostras compostas serão formadas pelas amostras secas da parte sólida e da parte líquida dos dois esvaziamentos ruminais (antes da alimentação e quatro horas após a alimentação), com base no peso seco de cada amostra.

As taxas de passagem (K_p) foram calculadas através do método “pool-and-flux”, descrito por Allen & Linton (2007), de acordo com a equação:

$$K_p = \text{fluxo abomasal} / \text{pool ruminal}$$

em que:

- K_p = taxa de passagem do alimento (%/hora);
- Fluxo abomasal = quantidade de MS no abomaso (kg/hora);
- Pool ruminal = quantidade total de MS ruminal (kg).

A taxa de digestão (K_d) foi calculada em função da taxa de passagem e da quantidade ingerida por hora, utilizando-se a equação:

$$K_d = (\text{consumo} / \text{pool ruminal}) - K_p$$

em que:

- K_d = taxa de digestão do alimento (%/hora);
- Consumo = alimento ingerido (kg de MS/hora).

3.8 Eficiência de produção microbiana

A produção de proteína microbiana, bem como sua eficiência, expressa em g de proteína microbiana por kg de NDT consumido foi estimada a partir da técnica dos derivados de purina na urina (Chen & Gomes, 1992).

As análises de alantoína na urina foram feitas por método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara *et al.* (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). Para a quantificação de ácido úrico na urina foi utilizado o sistema enzimático por reação de ponto final, seguindo o princípio uricase – reação de Trinder, utilizando-se kits comerciais. Ambas as análises de urina foram efetuadas em amostras diluídas para evitar a destruição bacteriana dos derivados de purinas urinários e precipitação do ácido úrico. A excreção dos derivados de purinas na urina foi calculada pela soma das excreções de alantoína e de ácido úrico na urina, em mmol/dia, que serão obtidas pelo produto entre a concentração das mesmas na urina pelo volume urinário diário.

As purinas absorvidas foram calculadas a partir da excreção de derivados de purina por intermédio da seguinte equação (Barbosa *et al.*, 2011):

$$Y = 0,74 \times X + 0,301 \times PC^{0,75}$$

onde Y = purinas absorvidas (mmol/dia), X = excreção de derivados de purina (mmol/dia), 0,74 = recuperação de purinas infundidas como derivados de purina e $0,301 \times PC^{0,75}$ = excreção de purinas de origem endógena por kg de peso metabólico por dia.

A síntese ruminal de compostos nitrogenados foi calculada em função das purinas absorvidas, utilizando-se a seguinte equação (Barbosa, et al., 2011):

$$Y = (70 \times X) / (0,93 \times 0,1369 \times 1000)$$

Onde: Y = síntese ruminal de compostos nitrogenados (gN/dia), X = purinas absorvidas (mmol/dia), 70 = conteúdo de N de purinas (mgN/mol), 0,93 = digestibilidade das purinas e 0,1369 = relação N purina ÷ N total nas bactérias.

Através da multiplicação da síntese ruminal de compostos nitrogenados pelo fator 6,25 foi obtida a síntese de proteína microbiana.

3.9 Análises químicas e análises estatística

Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) serão calculados de acordo com o proposto por (Detmann & Valadares Filho, 2010), sendo $CNF = 100 - ((\%PB - \%PB \text{ derivada da uréia} + \% \text{ da uréia}) + \%FDN + \%EE + \%MM)$. O consumo de energia dos animais será obtido a partir do produto entre o consumo de matéria seca e a teor energético das dietas, que será determinada a partir da fórmula recomendada por Detmann *et al.*, (2010): $NDT (\%) = PBD + 2,25 \times EED + CNFD + FDND$, sendo que PBD, EED, CNFD e FDND significam, respectivamente, proteína bruta digestível, extrato etéreo digestível, carboidratos não-fibrosos digestíveis e fibra em detergente neutro digestível, calculados a partir dos coeficientes de digestibilidade a serem obtidos no presente estudo.

As análises químicas seguirão os padrões do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA), publicadas por Detmann *et al.* (2012). As amostras de bagaço, ingredientes do concentrado, sobras, fezes e conteúdo ruminal foram analisadas no Laboratório de Pesquisa Animal da UFLA, quanto aos seus teores de matéria seca (MS), cinzas, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), e extrato etéreo (EE) seguindo os métodos INCT-CA G-003/1; INCT-CA M-001/1; INCT-CA N-001/1; INCT-CA F-002/1; e INCT-CA G-004/1, respectivamente.

O delineamento estatístico adotado foi em quadrado latino 2 * 2, com duas dietas e dois períodos experimentais, foram realizados 3 QL simultâneos com duração de 48 dias, os quais foram repetidos mais duas vezes com a finalidade de ao final do período experimental gerar 9 QL 2 * 2. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa SAS (Statistical Analysis System) adotando-se o nível crítico de 5% de probabilidade para o erro tipo I. O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + P_j + T_k + Q_m + \epsilon_{ijklm}$$

em que: Y_{ijklm} é a variável mensurada; μ é a constante geral; A_i é o efeito aleatório do animal i ; P_j é o efeito aleatório do período j ; T_k é o efeito do tratamento k ; Q_m é o efeito do quadrado m e ϵ_{ijklm} é o erro experimental. Sendo o animal, período, tratamento e quadrado efeitos fixos no modelo.

As variáveis de consumo, digestibilidade total e parcial, taxa de passagem e taxa de digestão foram calculadas utilizando PROC MIXED do SAS.

4. Resultados e discussão

O efeito do tratamento nos produtos finais da fermentação e a estabilidade aeróbia das silagens são mostradas na tabela 2.

As concentrações de ácido propiônico foram maiores ($P < 0,05$) na silagem com adição de ácidos orgânicos, comparado com o tratamento controle, podendo-se atribuir essa maior concentração de ácido propiônico pela adição deste na silagem do tratamento SMRA. Por sua parte a concentração de etanol foi maior ($P < 0,05$) no tratamento controle, mostrando uma maior fermentação alcoólica na silagem deste tratamento. As concentrações de ácido butírico e 1,2- propanodiol não foram detectadas nas silagens.

Tabela 2- Perfil fermentativo da silagem de grãos de milho reidratado nos dois tratamentos avaliados (%MS) e a estabilidade em horas

	Tratamentos ¹		P-Valor
	CON	SMRA	
%MS	63,8	65,2	----
Ácido láctico	7,64	8,49	0,3106
Ácido acético	0,61	0,63	0,7701
Ácido propiônico	0,00	0,12	<,0001
Etanol	1,30	0,69	0,0002

Estabilidade (Horas)	17,0	65,0	<0,0001
-------------------------	------	------	---------

1 CON: Controle (sem adição de ácidos na silagem); SMRA: silagem de grãos de milho reidratados com Adição de ácidos orgânicos. * Não foi detectado o ácido propiônico na leitura do tratamento controle.

Por outra parte a estabilidade aeróbia teve efeito do tratamento ($P < 0,05$), sendo os tempos de 17 e 65 horas para o tratamento controle e SMRA respectivamente. Mostrando o efeito da adição dos ácidos na silagem, como anteriormente dito a adição de ácidos orgânicos como no caso o ácido acético e propiônico podem ter um efeito na estabilidade aeróbia da silagem por suas propriedades antifúngicas.

Os consumos de MS, MO, EE, CNF, amido, FDN, nutrientes digestíveis totais (NDT) e FDNi foram afetados ($P < 0,05$) pelos tratamentos, tendo maior consumo os animais do tratamento controle, com exceção do consumo de FDNi que no tratamento SMRA foi maior comparado com o controle, os consumos médios de MS, MO, amido e FDN dos animais do tratamento controle foram 31,2; 29,9; 13,7; 6,12 e g/kg de PC (Tabela 3)

Tabela 3- Consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), amido e de nutrientes digestíveis totais (NDT) em função dos tratamentos.

Item	Tratamentos ¹		EPM ²	P-Valor
	CON	SMRA		
<i>kg/dia</i>				
MS	11,3	10,4	0,545	0,014
MO	10,9	9,94	0,255	0,014
PB	1,56	1,42	0,159	0,009
EE	0,32	0,28	0,147	0,002
CNF	6,56	5,97	0,211	0,014
FDN	2,44	2,28	0,169	0,047
FDNi	0,27	0,30	0,147	0,047
Amido	4,95	4,55	0,194	0,012
NDT	9,38	8,19	0,234	0,005
<i>g/kg PC</i>				
MS	31,2	28,8	0,420	0,009
MO	29,9	27,6	0,403	0,009
Amido	13,7	12,6	0,261	0,006
FDN	6,72	6,33	0,205	0,054

1 CON: Controle (sem adição de ácidos na silagem); SMRA: silagem de grãos de milho reidratados com Adição de ácidos orgânicos. 2 EPM: Erro padrão das medias, o valor apresentado na tabela é o maior valor de EPM encontrado entre as medias dos tratamentos.

Houve uma diminuição do consumo de MS por parte dos animais do tratamento SMRA, conseqüentemente teve efeito sobre o consumo dos outros constituintes., O consumo voluntario de MS em ruminantes pode estar regulado por distintos fatores como são, os físicos (tamanho da partícula), fatores químicos, teor de energia da dieta e até o consumo de água (Forbes; Provenza, 2000).

Muitos trabalhos falam também da relação que tem os produtos da fermentação da silagem com o consumo de matéria seca.

O principal produto final da fermentação de uma silagem é o ácido láctico (McDonald et al., 1991). Alguns estudos relatam a possível relação que tem o ácido láctico com o consumo de MS de ruminantes. Kung et al. (2003) resumiram 12 estudos que avaliaram os efeitos da alimentação de vacas e não encontraram alterações no consumo de MS. Uma meta-análise realizada por Oliveira et al. (2017) também relataram que a silagem tratada com inoculante bacteriano ácido láctico tiveram maior concentração de lactato que a silagem não tratada. Esses mesmos autores sugeriram que os efeitos do consumo de MS foram mediados indiretamente pela concentração reduzida de butirato, amônia e aminas biogênicas nas silagens inoculadas.

Por outro lado, Krizsan e Randby (2007) relataram uma relação inversa entre a concentração de lactato e consumo de MS de bovinos em crescimento, no entanto, relações negativas também foram observadas entre consumo de MS e acetato, propionato, butirato, amônia e aminas biogênicas.

O ácido encontrado em segunda maior concentração na silagem é o ácido acético, geralmente variando de 1 a 3% da MS. Semelhante ao ácido láctico, a concentração de ácido acético é geralmente inversamente relacionada ao consumo de MS (Kung, et al 2018). Vários autores relatam que devido a sua estrutura química e características sensoriais, o ácido acético como outros compostos orgânicos voláteis, podem influenciar a ingestão da dieta, e o metabolismo dos nutrientes (Dulphy e Van Os, 1996; Kristensen et al., 2013; Gerlach et al., 2018).

Uma meta-análise conduzida por Eisner et al. (2006) também mostraram que a concentração de ácido acético estava intimamente e negativamente relacionada com o consumo de silagem.

Por sua vez o ácido propiônico tem um comportamento similar ao ácido acético, também tem a capacidade de reduzir o consumo de MS pelos animais sem afetar o processo de digestão (Brown e Radcliff, 1972).

O ácido propiônico é usado como um aditivo, sozinho ou em combinação com outros ácidos orgânicos, devido às suas propriedades fungicidas e potencial para melhorar a estabilidade aeróbia na silagem (Kung et al., 2003).

Forsyth et al. (1972), relataram que novilhos alimentados com silagem de grãos úmidos de milho tiveram um consumo de MS maior do que aqueles alimentados com silagem de grãos úmidos de milho tratado com adição de ácido propiônico (1,5% MS). De maneira semelhante, neste estudo foi evidenciado menor consumo de MS e de nutrientes por parte dos animais tratados com silagem de grãos de milho reidratados com adição de ácidos orgânicos. O que leva pensar que a diminuição do consumo de matéria seca pode ser devido ao próprio ácido propiônico adicionado na silagem. Muitos trabalhos relatam a relação que tem a concentração de ácido propiônico que chega no fígado e o consumo dos animais, Allen et al., 2019 relataram que vacas leiteiras com adição de ácido propiônico na dieta tiveram menos consumo de MS e mostraram um aumento nas concentrações de piruvato e lactato hepáticos comparados com os animais não tratados, e eles falam que essa diminuição do consumo se deve possivelmente por o ácido propiônico estimular a oxidação do acetil-CoA no fígado.

Os nutrientes que são absorvidos pelo animal dependem da digestibilidade, mas o consumo é responsável pela maior parte das diferenças entre os alimentos, e nesse contexto a digestibilidade está relacionada com a cinética e taxa de passagem da digesta pelo trato digestivo (SILVA, 2011). Em relação à digestão total, foram observados maiores coeficientes de digestibilidade da MS, MO, EE, FDN para os animais do tratamento controle em comparação com o outro tratamento, o qual pode ser um reflexo do maior consumo desses nutrientes por parte destes animais, embora, que não teve um efeito do tratamento na digestão total da PB, CNF e amido, os animais do tratamento controle tiveram um maior teor dietético de NDT (Tabela 4), podendo especular que a concentração de ácido propiônico na silagem poderia ter afetado o consumo dos animais, mais sem ter um efeito na digestibilidade do amido nem da proteína da dieta.

Tabela 4 - Coeficientes de digestibilidade (g/g) total, ruminal e intestinal da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), amido e conteúdo dietético de nutrientes digestíveis totais (NDT, g/kg MS) em função dos tratamentos.

Item	Tratamentos ¹		EPM ²	P-Valor
	CON	SMRA		
<i>Total</i>				
MS	0,83	0,79	0,146	0,0250
MO	0,84	0,80	0,151	0,0278
PB	0,82	0,80	0,145	0,0605
EE	0,82	0,78	0,147	0,0183
CNF	0,92	0,91	0,145	0,1765
FDN	0,60	0,53	0,151	0,0394
Amido	0,98	0,98	0,143	0,1703
NDT	0,83	0,80	0,146	0,0138
<i>Ruminal*</i>				
MS	0,74	0,67	1,054	0,1827
MO	0,70	0,64	0,716	0,0558
PB	0,58	0,49	1,076	0,0633
Amido	0,98	0,98	0,227	0,3290
<i>Intestinal*</i>				
MS	0,26	0,33	1,055	0,1827
MO	0,30	0,36	0,716	0,0558
PB	0,45	0,55	1,406	0,2461
Amido	0,02	0,02	0,227	0,3290

1 CON: Controle (sem adição de ácidos na silagem); SMRA: silagem de grãos de milho reidratados com Adição de ácidos orgânicos. 2 EPM: Erro padrão das medias, o valor apresentado na tabela é o maior valor de EPM encontrado entre as medias dos tratamentos. * Os coeficientes de digestibilidade parcial (Ruminal e intestinal) foram calculados usando o indicador FDNi..

Não foram verificadas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$) quanto aos coeficientes de digestibilidade parcial (ruminal e intestinal), de MS, MO, PB e amido.

Ainda tendo um maior consumo de PB, CNF e amido por parte dos animais do tratamento controle, não foi observado efeito do tratamento na digestão total destes, podendo se atribuir isto ao fato que a silagem de grão de milho reidratado apresentando menor estabilidade e maior teor de etanol o que indica uma fermentação não desejada, podendo ter influência na qualidade e na quantidade de nutrientes presentes na silagem, o que provavelmente levou a um maior consumo por parte dos animais para poder saciar os requerimentos dos nutrientes.

Vários trabalhos relatam que os principais efeitos que podem ser observados com a adição dos aditivos químicos na silagem de grãos, são maior recuperação de MS, concentração de carboidratos solúveis e estabilidade aeróbia nessas silagens. Em contrapartida, menor concentração de etanol, contagem de leveduras e perdas de MS, também podem ser observados nessas silagens. Outros possíveis efeitos que se podem observar são a maior concentração de cinzas, proteína e ácido propiônico que, assim como os demais efeitos supracitados, são passíveis de ocorrerem em função da composição química dos aditivos (Morais et al. 2017).

Não foram encontrados efeitos ($P>0,05$) sobre a taxa de passagem e taxa de digestão de MS, MO, PB, FDN e amido (Tabela 5).

A concentração média de NAR não foi afetada pelos tratamentos ($P>0,05$), se mostrou um efeito do tempo de coleta do líquido ruminal, e não teve uma interação ($P>0,05$) entre o tratamento e o tempo, de maneira semelhante, os tratamentos não influenciaram o pH ruminal ($P>0,05$), tendo-se valores médios por horários de: 6,86 0h; 6,62 1h; 6,29 2h; 5,92 4h; 5,99 6h e 6,34 8h (Tabela 6)

Tabela 5 – Taxas de passagem (kp) e de degradação (kd) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e do amido em função dos tratamentos.

Item	Tratamentos ¹		EPM ²	P-Valor
	CON	SMRA		
Kp (/h)				
MS	0,045	0,047	0,006	0,8337
MO	0,037	0,040	0,005	0,8268
PB	0,066	0,065	0,010	0,9493
FDN	0,014	0,017	0,001	0,4546
Amido	0,025	0,027	0,003	0,8091
Kd (/h)				
MS	0,061	0,056	0,004	0,5115
MO	0,072	0,067	0,004	0,5585
PB	0,041	0,035	0,003	0,3752
FDN	0,021	0,018	0,001	0,3763
Amido	0,627	0,607	0,052	0,8395

1 CON: Controle (sem adição de ácidos na silagem); SMRA: silagem de grãos de milho reidratados com Adição de ácidos orgânicos. 2 EPM: Erro padrão das medias, o valor apresentado na tabela é o maior valor de EPM encontrado entre as medias dos tratamentos.

Muitos são os fatores que podem influenciar a taxa de passagem (kp) de um alimento, como podem ser características intrínsecas do animal, características da dieta total como: tamanho das partículas e a taxa de redução do tamanho dessas partículas (Huhtanen et al., 2006). Podendo-se isto se evidenciar nos resultados obtidos neste trabalho onde as taxas de passagem e digestão da MS, MO, PB, FDN e amido não mostraram diferenças entre os tratamentos avaliados, se esperaria que os animais do tratamento controle por terem maior consumo de MS e de os demais nutrientes apresentaram maior taxa de passagem comparado com os animais do tratamento SMRA, isto poderia ser explicado pelo efeito do ácido propiônico na dieta dos animais do tratamento SMRA diminuindo o consumo destes sem afetar a digestão dos nutrientes da dieta.

Tabela 6- Concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR, mg/dL) e pH ruminal em função dos tempos de coleta, dos tratamentos e a interação entre o tempo e tratamento

Item	TRAT ¹	Tempos ³						EPM ²	P-Valor		
		0	1	2	4	6	8		Tratamento	Tempo	Trat vs tempo
NAR	CON	13,7	17,0	13,6	9,60	7,51	8,01	1,156	0,2145	<0,001	0,8425
	SMRA	14,7	16,6	15,0	9,40	9,93	8,81				
pH	CON	6,88	6,65	6,35	5,85	5,97	6,31	0,080	0,9898	<0,001	0,6718
	SMRA	6,85	6,59	6,22	5,98	6,01	6,36				

1 CON: Controle (sem adição de ácidos na silagem); SMRA: silagem de grãos de milho reidratados com adição de ácidos orgânicos. 2 EPM: Erro padrão das médias, o valor apresentado na tabela é o maior valor de EPM encontrado entre as médias dos tratamentos. 3 tempos: tempos de coleta do líquido ruminal em horas.

Na maioria das situações, 40 a 100% do nitrogênio exigido pelos microrganismos ruminais poderia ser derivado do nitrogênio amoniacal (Stern & Hoover 1979). Os valores médios de N-NH₃ para (11,57 e 12,40 mg/dl., respectivamente), obtidos neste trabalho, foi suficiente para garantir o crescimento bacteriano, conforme Preston (1986), que citou o valor de 5mg/dL de N-NH₃ de conteúdo ruminal como mínimo para garantir o crescimento de bactérias. Embora que os animais do tratamento SMRA tiveram um consumo menor de PB comparado com o tratamento controle, não se apresentou uma diferença na concentração de N-NH₃ entre os tratamentos.

Os carboidratos não fibrosos, de rápida degradação ruminal, como é o amido do grão de milho ensilado, podem provocar redução no pH do rúmen, interferindo na biohidrogenação ruminal, mas isso não aconteceu no presente estudo (Tabela 6). Os valores de pH ruminal não modificaram ($P>0,05$) a atividade da microflora ruminal, apresentando um valor médio de 6,34. De acordo com Coelho & Leão (1979), valores de pH inferiores a 6,0 podem acarretar diminuição da atividade das bactérias fibrolíticas, reduzindo a degradação da fibra.

Fregadolli et al. (2001), avaliando o efeito de dietas contendo fontes de amido de alta e baixa degradabilidade ruminal, com fontes de N de alta e baixa degradabilidade ruminal, não observaram alterações significativas no pH ruminal de bovinos.

A concentração de NUS não foi afetada ($P>0,05$) pelos tratamentos, apresentando uma média de 16,84 mg/dL para os tratamentos avaliados (Tabela 6).

Não foram verificadas diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos na concentração sanguínea de glicose (Tabela 7).

O consumo de nitrogênio foi maior ($P<0,05$) por parte dos animais do tratamento controle, tendo um consumo médio de 248,6g N/dia em comparação com 226,8g N/dia nos animais do tratamento SMRA (Tabela 7). Por sua vez a excreção urinária de nitrogênio (EUN) assim como a excreção fecal de nitrogênio (EFN), não foram afetados ($P>0,05$) pelos tratamentos (Tabela 7). Como resultado final o balanço aparente de compostos nitrogenados (BN) foi maior ($P<0,05$) nos animais do tratamento controle. Em média o BN foi 5,7% maior no tratamento controle comparado ao tratamento SMRA (Tabela 7).

Não houve efeito dos tratamentos ($P>0,05$) sobre a excreção urinária dos derivados de purinas (PP). De forma análoga, a sínteses de compostos nitrogenados (SCN) e a sínteses de proteína microbiana (SPM) não foram afetados ($P>0,05$) pelos tratamentos (Tabela 7).

Embora que os animais do tratamento controle tiveram um maior consumo de PB, a eficiência de sínteses microbiana (EFM) não foi afetada ($P>0,05$) pelos tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7- Concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS, mg/dL), concentração de glicose em sangue (GLI, mg/dL), consumo de nitrogênio (CN, g/dia), excreção fecal (EFN, g/dia) e urinária de nitrogênio (EUN, g/dia), balanço aparente de compostos nitrogenados (BN, g/dia), excreção urinária de ácido úrico (EUAU, Mmol/dia), excreção urinária de alantoina (EUA, Mmol/dia), produção de purinas (PP, Mmol/dia), sínteses de compostos nitrogenados (SCN, gN/dia), sínteses de proteína microbiana (SPM, g/dia) e eficiência de sínteses microbiana (EFM, g PB microbiana/kg de NDT)

Item	Tratamentos ¹		EPM ²	P-Valor
	CON	SMRA		
NUS	16,93	16,74	0,82	0,7787
GLI	78,89	79,68	0,91	0,2923
CN	248,6	226,8	2,75	0,0101
EFN	43,00	47,27	1,12	0,1865
EUN	23,93	26,93	1,12	0,4328
BN	181,7	152,6	2,02	0,0073
EUAU	1,300	1,460	0,19	0,5012
EUA	68,40	76,27	1,85	0,3668
PP	69,70	77,73	1,88	0,3645
SCN	42,15	45,53	0,90	0,3517
SPM	263,4	284,6	4,90	0,3518
EFM	28,55	35,11	0,73	0,0748

1 CON: Controle (sem adição de ácidos na silagem); SMRA: silagem de grãos de milho reidratados com Adição de ácidos orgânicos. 2 EPM: Erro padrão das medias, o valor apresentado na tabela é o maior valor de EPM encontrado entre as medias dos tratamentos.

A ureia constitui a principal forma de excreção de compostos nitrogenados em mamíferos. Nos ruminantes, quando a taxa de síntese da amônia excede a taxa de utilização pelos microrganismos, se tem uma elevação da concentração de amônia no rúmen, que é absorvida pela corrente sanguínea através da parede ruminal, sendo esta transportada até o fígado para ser convertida em grão parte em ureia. Como a ureia é uma pequena molécula solúvel em água e altamente permeável, está presente em todos os fluidos corporais, inclusive o sangue (Frosi & Mullbach, 1999).

Nos ruminantes, mais de 60% da ureia plasmática é originada do metabolismo da amônia no rúmen, a alta concentração deste metabolito está relacionada com a utilização ineficiente da proteína bruta da dieta (Broderick & Clayton, 1997).

Valores aceitáveis de NUS entre 10-16 mg/dL, foram descritos por Moore & Varga (1996). Valores semelhantes se acharam neste trabalho com uma média de 16,84 mg/dL, podendo-se avaliar uma relação entre NAR:NUS neste trabalho, tendo em conta

que as concentrações de NAR e de NUS podem ser consideradas indicadores do nitrogênio que é transferível do rúmen para o sangue e do sangue para o rúmen. O que uma queda na relação de NUS:NAR indica uma redução na transferência de ureia para o rúmen e aumento na transferência de amônia para o sangue. Neste trabalho não se observou um efeito do tratamento na produção de NAR ao igual que não teve um efeito na concentração de NUS.

Embora o ruminante não utiliza a glicose como principal combustível para todas as células, este nutriente é de fundamental importância para manutenção energética das células nervosas, da glândula mamária, da musculatura, dos tecidos fetais e em menor proporção dos eritrócitos (Leng e Annison, 1962). Contrário aos monogástricos, nos ruminantes a glicose é oriunda da gliconeogênese, ou seja, sintetizado indiretamente a partir de diferentes compostos orgânicos. Esta adaptação metabólica é utilizada pelos ruminantes devido à que os substratos energéticos, em especial os que contêm glicose, são intensamente fermentados no rúmen (Bergman, 1973).

Segundo Herdt (2000), o nível de glicose plasmático é o indicador menos expressivo do perfil para avaliar o nível energético, devido à insensibilidade da glicemia a mudanças nutricionais e à sua sensibilidade ao estresse.

Os valores de referência que se tem na literatura para glicose são de 2,5 a 4,16 mmol/L, segundo Kaneko et al. (1997), e 2,0 a 3,0 mmol/L, segundo Payne e Payne (1987), os quais foram determinados em vacas de leite ou de corte em lactação ou em gestação. Segundo Rosenberger (1993), os valores estão entre 45-75 mg/dL. Valores semelhantes foram obtidos neste trabalho com médias de 78,89 mg/dL e 79,68 mg/dL no tratamento controle e SMRA respectivamente. Embora os animais do tratamento controle tiveram um maior consumo de amido, estes não apresentaram diferenças no nível de glicose em sangue comparado com os animais do tratamento SMRA que tiveram um menor consumo de amido, podendo-se corroborar o anteriormente dito, que o nível de glicose no sangue não é um indicador muito expressivo do perfil energético do animal.

O consumo de N foi maior para os animais do tratamento controle, explicado isto pelo maior consumo de PB bruta que tiveram estes animais, apesar do maior consumo de nitrogênio, quando se observa a EUN e EFN estes não tiveram diferença ($P > 0,05$) significativa entre os tratamentos, mais sim se apresentou um efeito ($P < 0,05$) do tratamento sobre o BN sendo os animais do tratamento controle com maior BN. Entre os mecanismos que podem afetar indiretamente o balanço de compostos nitrogenados, o NAR parece ter uma grande influência (Lazzarini, 2011). No entanto, neste trabalho não

se achou diferenças na concentração de NAR entre os tratamentos o qual não poderia ser explicar o maior balanço de nitrogênio nos animais do tratamento controle. Neste sentido, pode-se especular que houve uma maior absorção de PB no intestino delgado, uma maior incorporação de aminoácidos nos tecidos e assim um ampliamto no BN por parte dos animais do tratamento controle em comparação com o SMRA. Isto poderia ser corroborado com o achado por Wickersham et al. (2008; 2009), os quais verificaram que a suplementação proteica pós-rúmen proporcionou aumento na retenção de nitrogênio no organismo animal.

O fato de não haver efeito dos tratamentos sobre a SCN, SPM, além de ter um maior consumo de nitrogênio e um maior BN nos animais do tratamento controle, a utilização do nitrogênio no rúmen não variou entre os tratamentos. Isto apoia a consideração acima mencionada de que parte da proteína oferecida na dieta dos animais com tratamento controle foi digerida no intestino delgado e tendo uma maior retenção de aminoácidos nos tecidos, por outra parte se pode dizer também que os animais do tratamento SMRA tiveram uma maior degradação da proteína da dieta no rúmen, como também se poderia especular que estes animais tiveram uma maior reciclagem de nitrogênio, sendo isto respaldado pelo menor consumo de proteína e pela concentração similar de NAR com os animais do tratamento controle.

5. Conclusão

A adição de ácidos orgânicos na silagem de grãos de milho reidratados reduziu o consumo de MS, dos demais nutrientes da dieta. Contudo, o fornecimento da silagem de grãos de milho com a adição de ácidos orgânicos não alterou a digestibilidade total, parâmetros ruminais e o metabolismo dos animais avaliados.

6. Referências bibliográficas

Allen, M. S., & Linton, J. V. (2007). In vivo methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen. In: Proc of 1st Simpósio Internacional

Anil, M. H., and J. M. Forbes. 1980. Feeding in sheep during intraportal infusions of short-chain fatty acids and the effect of liver denervation. *J. Physiol.* 298:407–414

Antunes, R. C., Rodriguez, N. M., Saliba, E. O. S. Metabolismo de carboidratos não estruturais. In: _____. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, 2011. p. 239-263.

Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes – ABIEC, 2019. Perfil da pecuária no Brasil. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/PublicacoesLista.aspx>>. Acessado em 05/01/2020.

Baker, S.; Herman, T. Evaluating particle size. Kansas State: University, 2002. Publication MF-2051. Disponível em: <http://www.ksre.ksu.edu/library/grsci2/mf2051.pdf>, acesso em: 17 de julho de 2015.

Barbosa, A. M., Valadares, R. F. D., Valadares Filho, S. C., Pina, D. S., Detmann, E., & Leão, M. I. (2011). Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle1. *Journal of Animal Science*, 89(2), 510–519. doi:10.2527/jas.2009-2366.

Bernardes, T.F.; Siqueira, G.R.; Reis, R.A. importância do planejamento na produção e uso da silagem. In: Evangelista, A.R.; Amaral, P.N.C.; Padovani, R.F.; Tavares, V.B.; Salvador, F.M.; Perón, A.J. (Eds). Forragicultura e pastagens: temas em evidencia. 5 ed. Lavras: Ufla, 2005. P. 121- 176.

Bernardes, T., & Castro, T. (2019). PSXII-12 Silages and roughage sources in the Brazilian beef feedlots. *Journal of Animal Science*, 97(Supplement_3), 411–411. doi:10.1093/jas/skz258.815.

Britt, D. G., and J. T. Huber. 1975. Preservation and animal performance of high moisture corn treated with ammonia or propionic acid. *J. Dairy Sci.* 59:668–674.

Brown, D. C. e Radcliffe, J. C. 1972. Relationship between intake of silage and its chemical composition and "in vitro" digestibility. *Australian Journal of Agricultural Research* 23:25-33

Castro, F.G.F.; Nussio, L.G.; Haddad, C.M. et al. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon sp.*) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, p. 358-371, 2006.

Chen, X. B., & Gomes, M. J. (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details (pp. 1-21). Rowett Research Institute.

Cho, S., Mbiriri, D. T., Shim, K., Lee, A. L., Oh, S. J., Yang, J., ... & Oh, Y. K. (2014). The influence of feed energy density and a formulated additive on rumen and rectal temperature in Hanwoo steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(11), 1652.

Daniel, J. L.P. et al. Performance of dairy cows fed high levels of acetic acid or ethanol. *J. Dairy Sci.* 96 :398–406.

Daniel, J. L. P., Bernardes, T. F., Jobim, C. C., Schmidt, P., & Nussio, L. G. (2019). Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass and Forage Science*. doi:10.1111/gfs.12417.

Detmann, E., & Valadares Filho, S. C. (2010). On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(4), 980-984.

Detmann, E., Souza, M. D., Valadares Filho, S. D. C., Queiroz, A. D., Berchielli, T. T., Saliba, E. D. O., & Azevedo, J. A. G. (2012). *Métodos para análise de alimentos*. Visconde do Rio Branco: Suprema, 214.

Dulphy, J. P. e Van Os, M. 1996. Control of voluntary intake of precision-chopped silages by ruminants: a review. *Reproduction Nutrition Development* 36:113–135.

Eisner, I., Südekum, K.-H., Kirchhof, S. 2006. Relationships between silage fermentation characteristics and feed intake by dairy cows. *Übers. Tierernähr.* 34:197–221.

Elliot, J. M., H. W. Symonds, and B. Pike. 1985. Effect on feed intake of infusing sodium propionate or sodium acetate into a mesenteric vein of cattle. *J. Dairy Sci.* 68:1165–1170.

Ferraretto, L. F., Shaver, R. D., & Luck, B. D. (2018). Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3937–3951. doi:10.3168/jds.2017-13728.

Forsyth, J. G.; Mowat, D. N. e Stone, J. B. 1972. Feeding value for beef and dairy cattle of high moisture corn preserved with propionic acid. *Canadian Journal of Animal Science* 52:73-79.

Freese, E., Shew, C. & Galliers, E. 1973 Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature* 24, 321-325.

Gerlach, K., Roß, F., Weiß, K., B€uscher, W., & S€udeku, K. H. 2014. Aerobic exposure of grass silages and its impact on dry matter intake and preference by goats. *Small Ruminant Research*, 117, 131–141.

Gerlach, K.; Katsimeni, E. e S€udekum, K.-H. 2018. Volatile organic compounds in silages – possible effects on intake and metabolism by ruminants and quality of ruminant products: a review. In: Gerlach, K. e S€udekum, K.-H. (Eds.). *Proceedings XVIII International Silage Conference* p.78–79

Goodrich, R.D.; Byers, F.M.; Meiske, J.C. Influence of moisture content, processing and reconstitution on the fermentation of corn grain. *Journal of Animal Science*, Albany, v. 41, n. 3, p. 876-881, 1975.

Henrique, W.; Beltrame filho, J.A.; Leme, P.R.; Lanna, D.P.D.; Alleoni, G. F.; Coutinho filho, J.L.V.; Sampaio, A.A.M. Avaliação da silagem de grãos de milho úmido com diferentes volumosos para tourinhos em terminação. Desempenho e características de carcaça. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 183-190, 2007.

Hill, J.; Leaver, J.D. Changes in chemical composition and nutritive value of urea treated whole crop wheat during exposure to air. *Animal feed Science and technology*, v. 102, p. 181-195, 2002.

Hoffman, P. C., and S. M. Ocker. 1997. Quantification of milk yield losses associated with feeding aerobically unstable high moisture corn. *J. Dairy Sci.* 80(Suppl. 1):234 (Abstr.).

Hoffman, P.C; Shaver, R.D. UW- Feed Grain Evaluation System. Disponível em: <http://www.uwex.edu/ces/dairynutrition/documents/WisconsinFGES.pdf>. Acesso em: 17 de julho de 2015.

Junges, D., Morais, G., Spoto, M. H. F., Santos, P. S., Adesogan, A. T., Nussio, L. G., & Daniel, J. L. P. (2017). Short communication: Influence of various proteolytic.

Kung, L; Stokes, M. R. e Lin, C. J. 2003. Silage additives. In: Buxton, D. R.; Muck, R. E.; Harrison, J. H. (Eds). *Silage science and technology*. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy. p. 305-360

Kung, L. JR., R. J. Schmidt, T. E. Ebling, and W. Hu. 2007. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of ground and whole high-moisture corn. *J. Dairy Sci.* 90:2309–2314.

Kung, L., JR., R. D. Shaver, R. J. Grant, R. J. Schmidt. 2018. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *J. Dairy Sci.* 101:4020–4033.

Kreikemeier, K., Harmon, D., Brandt, R., Avery, T., & Johnson, D. (1991). Small intestinal starch digestion in steers: Effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small in-testinal disappearance and net glucose absorption. *Journal of Animal Science*, 69(1), 328–338.

Kristensen, N. B. 2013. Metabolic effect of silage fermentation end products in lactating dairy cows. In: Daniel, J. L. P.; Santos, M. C. e Nussio, L. G. (Eds.). *Proceedings III International Symposium on Forage Quality and Conservation*. p.209–218.

Krizsan, S. J. e Randby, A. T. 2007. The effect of fermentation quality on the voluntary intake of grass silage by growing cattle fed silage as the sole feed. *Journal of Animal Science* 85:984-996

McCann JC, Luan S, Cardoso FC, Derakhshani H, Khafipour E and Looor JJ (2016) Induction of Subacute Ruminal Acidosis Affects the Ruminal Microbiome and Epithelium. *Front. Microbiol.* 7:701. doi: 10.3389/fmicb.2016.00701.

McDonald, P.; Henderson, A. R. e Heron, S. J. E. 1991. *The biochemistry of silage*. 2 ed. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, UK. 340p.

Mills, J.A.; Kung, L. Jr. The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. *Journal of Dairy Science*, v. 85 p. 1969-1975, 2002.

Moon, N. J. 1983. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate, and propionate and their synergistic mixtures. *J. Appl. Bacteriol.* 55:453–460.

Oliveira, A. S. et al. 2017. Meta-analysis of the effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 100:4587-4603.

Owens, F., Zinn, R. A., & Kim, Y. K. (1986). Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of animal science*, 63(5), 1634-1648.

Owens, F.; Basalan, M. Grain processing: gain and efficiency responses by feedlot cattle. In: *PLAINS NUTRITION COUNCIL SPRING CONFERENCE, 2013*. Amarillo Proceedings... Amarillo, 2013. p.76-100.

Pahlow, G., R. E. Muck, F. Driehuis, S. J. W. H. Oude Elferink, and S. F. Spoelstra. 2003. Microbiology of ensiling. Pages 31–93 in *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.

Philippeau, C.; Michalet-doreau, B. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *Animal. Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 68, p. 25-35, 1997.

Pinto, A. C. J., & Millen, D. D. (2018). Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 brazilian survey. *Canadian Journal of Animal Science*. doi:10.1139/cjas-2018-0031.

Potts, S. B., Boerman, J. P., Lock, A. L., Allen, M. S., & VandeHaar, M. J. (2017). Relationship between residual feed intake and digestibility for lactating Holstein cows fed high and low starch diets. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 265–278. doi:10.3168/jds.2016-11079.

Punia, B.S., Leibholz, J. and Faichney, G.J., 1988. Effects of level of intake and urea supplementation of alkali-treated straw on protozoal and bacterial nitrogen synthesis in the rumen and partition of digestion in cattle. *Aust. J. Agric. Res.*, 39:1181-1194.

Stock, R. A., & Erickson, G. E. (2006). Associative effects and management-combinations of processed grains. In *Cattle Grain Processing Symposium*. 2006. Proceedings... Tulsa: Oklahoma State University.

Swanson, K. C., Richards, C. J., & Harmon, D. L. (2002). Influence of abomasal infusion of glucose or partially hydrolyzed starch on pancreatic exocrine secretion in beef steers. *Journal of Animal Science*, 80(4), 1112–1116. doi:10.2527/2002.8041112x.

Waldo, D.R. 1973. Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 37:1062-1074.

Weiss, W. P., Chamberlain, D. G., Hunt, C. W. 2003. Feeding Silages, In *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.

Udén, P., Colucci, P. E., & Van Soest, P. J. (1980). Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31(7), 625-632.

Zinn, R.A.; Owens, F. N.; Ware, R. A. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, Savoy, v. 80, p. 1145-1156, 2002.