

BRENO DE CASTRO SILVA

**EFEITO DA ENSILAGEM DE GRÃOS DE MILHO E SORGO RECONSTITUÍDOS
SOBRE OS LOCAIS DE DIGESTÃO E ESTIMAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE *IN*
VIVO ATRAVÉS DE PROCEDIMENTOS DE INCUBAÇÃO RUMINAL *IN SITU* E *IN*
VITRO EM BOVINOS NELORE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S586e
2018
Silva, Breno de Castro, 1989-
Efeito da ensilagem de grãos de milho e sorgo reidratados sobre os locais de digestão e estimacão da digestibilidade *in vivo* através de procedimentos de incubacão ruminal *in situ* e *in vitro* em bovinos Nelore / Breno de Castro Silva. – Viçosa, MG, 2018. ix, 86f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Sebastião de Campos Valadares Filho.
Dissertacão (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Nelore (Bovino). 2. Bovino - Alimentacão e raçoes.
3. Rúmen - Fermentacão. 4. Digestibilidade. 5. Milho - Silagem.
6. Sorgo - Silagem. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduacão em Zootecnia. II. Título.

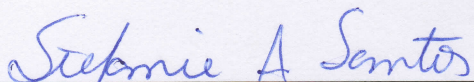
CDD 22. ed. 636.20855

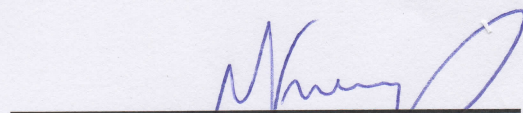
BRENO DE CASTRO SILVA

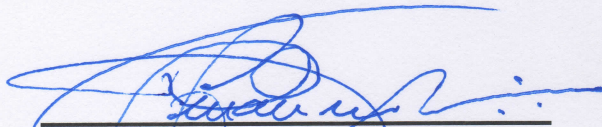
**EFEITO DA ENSILAGEM DE GRÃOS DE MILHO E SORGO REIDRATADOS
SOBRE OS LOCAIS DE DIGESTÃO E ESTIMAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE
IN VIVO ATRAVÉS DE PROCEDIMENTOS DE INCUBAÇÃO RUMINAL IN
SITU E IN VITRO EM BOVINOS NELORE**

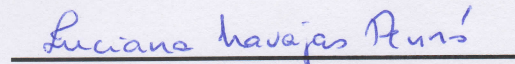
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

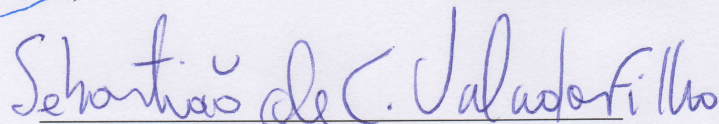
APROVADA: 27 de fevereiro de 2018.


Stefanie Alvarenga Santos


Mário Fonseca Paulino


Edenio Detmann
(Coorientador)


Luciana Navajas Rennó
(Coorientadora)


Sebastião de Campos Valadares Filho
(Orientador)

Aos meus pais, Vicente de Paula Silva e Eunice Aparecida Castro Cabral Silva, exemplos de vida, força, amor e dedicação, sempre me apoiaram e mostraram o caminho certo a seguir.

À Letícia Artuzo Godoi, pela valiosa ajuda na condução deste trabalho, carinho, apoio, paciência e conselhos.

À minha irmã Polyana de Castro Silva pela amizade, apoio, incentivo e por me inspirar, com exemplos, a buscar sempre os meus objetivos de vida.

Ao meu irmão Marcos Vinícius Carneiro Pacheco pelo companheirismo, apoio, incentivo e motivação em sempre buscar o meu melhor.

Aos amigos da Zootecnia UFV pelo companheirismo e momentos felizes que me proporcionam.

Aos demais familiares e amigos pelo incentivo, apoio e carinho.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, família e bênçãos concedidas.

À Universidade Federal de Viçosa, por minha formação, em especial ao Departamento de Zootecnia, pela realização deste excelente curso e possibilitar meu aperfeiçoamento profissional e pessoal.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento parcial desta pesquisa e pela concessão de bolsa. A Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento parcial desta pesquisa. Ao Pedro Veiga Rodrigues Paulino e à Cargill Animal Nutrition pela valiosa contribuição com o presente experimento.

Ao professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pela confiança, oportunidades, ensinamentos, companheirismo e excelente orientação.

Aos meus coorientadores Edenio Detmann e Luciana Navajas Rennó e os membros da banca Stefanie Alvarenga Santos e Mário Fonseca Paulino, pela valiosa contribuição neste trabalho.

À minha família, por ser minha base forte e meu refúgio em todos os momentos de incerteza e por me fazerem trilhar um caminho de vitórias e alegrias.

À Letícia, pelo carinho, companheirismo, incentivo e ajuda.

Ao irmão que a Zootecnia me deu, Marcos Pacheco, pela parceria na condução do experimento.

Aos funcionários do DZO: José Geraldo, Joelcio, Nataniel (Pum), Daniel, Monteiro, Fernando, Mário, Aline, Plínio, Fernanda, Venâncio e Erivelton (Chicão) por toda ajuda durante a execução deste projeto.

Aos amigos e bolsistas de iniciação científica do Laboratório Animal que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho: Magal, Luiz Fernando, Polyana, Zanetti, Flávia, Ana Clara, Danillo, Laura, Herlon, Jéssica, Pauliane, Caio, Bruno, Nathalia e Erica.

Aos estagiários pela enorme ajuda durante todo experimento.

Aos amigos do LCC, Labtec e Laboratório de Nutrição por toda ajuda e momentos de descontração.

A todos que, mesmo indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado.

BIOGRAFIA

BRENO DE CASTRO SILVA, filho de Vicente de Paula Silva e Eunice Aparecida de Castro Cabral Silva, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 06 de fevereiro de 1989.

Em janeiro de 2016, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 2016, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia, pelo Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Avaliação de alimentos, Produção e Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa da dissertação em 27 de fevereiro de 2018.

SUMÁRIO

	Página
Resumo	vi
Abstract	viii
Introdução Geral	1
Referências	5
CAPÍTULO 1 - Efeito da ensilagem do milho e sorgo reconstituídos sobre os locais de digestão em bovinos Nelore	
Resumo	11
Abstract	13
Introdução	15
Material e Métodos	16
Resultados	25
Discussão	46
Conclusão	49
Referências	49
CAPÍTULO 2 - Estimação da digestibilidade <i>in vivo</i> através de procedimentos de incubação ruminal <i>in situ</i> e <i>in vitro</i> de dietas à base de milho ou sorgo com diferentes processamentos	
Resumo	57
Abstract	58
Introdução	59
Material e Métodos	60
Resultados	70
Discussão	76
Conclusão	81
Referências	81

RESUMO

SILVA, Breno de Castro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Efeito da ensilagem de grãos de milho e sorgo reconstituídos sobre os locais de digestão e estimação da digestibilidade *in vivo* através de procedimentos de incubação ruminal *in situ* e *in vitro* em bovinos Nelore.** Orientador: Sebastião de Campos Valadares Filho. Coorientadores: Edenio Detmann e Luciana Navajas Rennó.

Objetivou-se avaliar o efeito do teor de concentrado na dieta e da ensilagem dos grãos de milho e sorgo reconstituídos sobre a digestão ruminal, intestinal e total do amido e demais componentes da dieta em machos Nelore (Experimento 1), bem como avaliar os tempos de incubação ruminal *in situ* e *in vitro* capazes de prever a digestibilidade *in vivo* da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e amido de dietas completas (Experimento 2). Foram utilizados 5 bovinos machos, não castrados, da raça Nelore com idade média de 8 ± 1 meses e peso corporal médio de 262 ± 18 kg, distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 5×5 , sendo cinco dietas e cinco períodos, com arranjo fatorial $2 \times 2 + 1$. Foram avaliadas cinco dietas experimentais, das quais, quatro foram compostas de 28,44% de silagem de milho, 60,83% de grãos de milho moído seco (MMS), sorgo moído seco (SMS), silagem de grãos de milho reconstituídos (SMR) ou silagem de grãos de sorgo reconstituídos (SSR) e 10,73% de suplemento proteico mineral. Avaliou-se ainda uma dieta com menor teor de concentrado (CTL) composta de 45% de silagem de milho, 44,27% de milho moído seco e 10,73% de suplemento proteico mineral. O suplemento proteico mineral foi composto de: 62,90% de farelo de soja, 27,40% de núcleo mineral Nutronbeef[®], 9,70% de ureia + sulfato de amônio na proporção 9:1. Aproximadamente 60 dias antes do início do experimento procedeu-se à reconstituição e ensilagem dos grãos, que tiveram a matéria seca ajustada para aproximadamente 65%. Cada um dos cinco períodos experimentais teve duração de 23 dias, sendo 14 para adaptação e 9 dias de coleta. Do 15º ao 19º dia foi realizada coleta total de fezes, urina e mensurado o pH ruminal, utilizando-se um bolus inserido no rúmen de cada animal, via fístula. Ensaio de degradabilidade *in situ* e *in vitro* das dietas MMS, SMS, SMR e SSR foram realizados concomitantemente ao ensaio de digestibilidade *in vivo* do 15º ao 19º dia de cada período experimental. Do 20º ao 22º dia foram realizadas oito coletas de digesta omasal com intervalo de 9 horas. Os fluxos dos constituintes da digesta omasal foram estimados pelo sistema de indicador duplo, sendo utilizada a fibra insolúvel em detergente neutro indigestível como indicador de fase sólida e o Co-EDTA para fase líquida e de pequenas partículas. Os dados foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS e,

quando pertinente, as médias comparadas utilizando-se o teste Tukey, considerando 5% como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. As análises estatísticas dos resíduos de incubação foram realizadas através do procedimento NLIN do SAS, versão 9.4, a partir do algoritmo Marquardt para obter os parâmetros das equações de regressão não lineares. Houve tendência ($P < 0,10$) de redução no consumo de MS e de MO para as dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. Com relação aos consumos de FDNcp e de amido, houve redução ($P < 0,05$) quando os animais receberam dieta com menor teor de concentrado e também para as dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. O consumo de proteína bruta (PB) não foi afetado ($P > 0,05$) pelos fatores avaliados. Quanto às digestibilidades ruminais, houve redução ($P < 0,05$) para MS, MO, FDNcp, PB e amido para animais recebendo silagens de grãos reconstituídos. O menor teor de concentrado na dieta reduziu ($P < 0,05$) a digestibilidade ruminal da MS, MO e amido. Dietas à base de milho apresentaram maiores ($P < 0,05$) digestibilidades intestinais para MS, MO, PB e amido, quando comparadas a dietas à base de sorgo. O mesmo efeito foi verificado para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. Houve tendência de aumento ($P < 0,10$) da eficiência microbiana para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos em relação aos grãos secos. Houve efeito ($P < 0,05$) do tipo de grão sobre as concentrações totais de AGV (mmol/dL), sendo maiores valores observados para o milho em relação ao sorgo. A dieta com maior teor de concentrado e dietas à base de milho apresentaram maiores ($P < 0,05$) proporções molares de propionato e menor ($P < 0,05$) relação acetato:propionato. O tempo necessário para estimar a digestibilidade *in vivo* da MS, MO e amido foi de 24 horas para o método *in situ* e de 36 horas para o método *in vitro*. Conclui-se que, dietas à base de silagem de grãos reconstituídos aumentam a eficiência microbiana, reduzem a ingestão de amido e alteram os locais de digestão dos principais componentes das dietas. Além disso, a digestibilidade *in vivo* pode ser predita através de diferentes tempos de incubação *in situ* e *in vitro*.

ABSTRACT

SILVA, Breno de Castro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Effects of ensiling reconstituted corn or sorghum grains on digestion sites and estimation of *in vivo* digestibility through *in situ* and *in vitro* ruminal incubation procedures in Nellore cattle.** Adviser: Sebastião de Campos Valadares Filho. Co-advisers: Edenio Detmann and Luciana Navajas Rennó.

Two experiments were developed aiming to (Exp. 1) determine effects of ensiling reconstituted corn or sorghum grains, and different levels of concentrate in the diet on ruminal, intestinal, and total tract digestion of starch and other nutrients of Nellore bulls; and (Exp. 2) to evaluate the capability of *in vitro* and *in situ* different incubation periods to accurately predict *in vivo* dry matter (DM), organic matter (OM), and starch digestibility of complete diets. Five Nellore bulls with an average age of 8 ± 1 months and an average bodyweight of 262 ± 18 kg were used. The bulls were distributed in a 5×5 latin square design, with 5 diets and 5 periods, using a $2 \times 2 + 1$ factorial scheme. Four of the five diets were composed of 28.44% corn silage, 10.73% protein and mineral supplement, and 60.83% ground corn (GC); or ground sorghum (GS); or reconstituted corn grain silage (RCS); or reconstituted sorghum grain silage (RSS). A greater roughage:concentrate ratio diet composed of 45% corn silage, 10.73% protein and mineral supplement, and 44.27% ground corn (GRC) was also evaluated. The protein and mineral supplement were composed of 62.90% soybean meal, 27.40% mineral mixture Nutronbeef[®], 9.70% mixture of urea + ammonium sulfate (9:1). The rehydration and ensiling of the corn and sorghum grains were performed approximately 60 days before the beginning of the experiment. Rehydration process consisted in adjust grain DM to approximately 65%. Each period lasted 23 days, being 14 days for acclimation and 9 days of data collection. In Exp. 1, from the 15th to 19th days, total fecal and urine collections were performed, and ruminal pH was measured using a bolus inserted to ruminal fistula. From the 20th to 22th day, eight samples of omasal digesta were performed in a 9-h interval. The flows of the omasal digesta constituents were estimated using the double marker system, with indigestible neutral detergent fiber (iNDF) as solid phase marker and Co-EDTA for liquid phase and small particles. Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS. Means were compared using Tukey test, considering 5% as the critical probability level. Compared to GC and GS diets, rehydration and ensiling processes tended to reduce ($P < 0.10$) DM and OM intakes. Greater ($P < 0.05$) starch and NDFap intakes were observed for GC diet compared to GRC diet, and for GC and GS diets compared to RCS and RSS diets. There was

no effect ($P > 0.05$) of level of concentrate, type of grain or rehydration and ensiling processes on crude protein (CP) intake. Ruminal digestibility of DM, OM, NDFap, CP, and starch were reduced ($P < 0.05$) in bulls fed RCS and RSS diets compared to GC and GS diets. Ruminal digestibility of DM, OM and starch were lower ($P < 0.05$) for the GRC diet compared to GC diet. Corn-based and reconstituted grain silage-based diets had greater ($P < 0.05$) intestinal digestibility of DM, OM, CP, and starch in relation to sorghum-based and GC and GS-based diets, respectively. Compared to GC and GS diets, rehydration and ensiling processes tended to increase ($P < 0.10$) microbial efficiency. There was no effect ($P > 0.05$) of level of concentrate, type of grain or rehydration and ensiling processes on volatile fatty acids concentration (mmol/dL), but level of concentrate and type of grain affected ($P < 0.05$) molar proportions of propionate and acetate:propionate ratio. Therefore, rehydration and ensiling of corn and sorghum grains increases microbial efficiency, reduces starch intake, and alters digestion sites of diet constituents, without impairing total amount digested. In Exp. 2, *in vitro* and *in situ* incubations of GC, GS, RCS, and RSS diets were simultaneously performed with Exp. 1 *in vivo* digestibility assay (from the 15th to 19th days). The *in vitro* and *in situ* incubations data were analyzed using the NLIN procedure of SAS, version 9.4. The best-fit values of the nonlinear parameters were chosen using the Marquardt algorithm. Also, Asymptotic confidence intervals were constructed for the parameters ($1 - \alpha = 0.95$). The *in vivo* DM, OM and starch digestibility were accurately estimated using 24-h *in situ* and 36-h *in vitro* incubations. In conclusion, *in vivo* digestibility can be predicted through different *in situ* and *in vitro* incubation times.

INTRODUÇÃO GERAL

Os confinamentos brasileiros de bovinos são caracterizados pela utilização de diversos planos de alimentação, com diferentes níveis de inclusão de concentrado (Millen et al., 2009). Sabe-se que o aumento do teor de concentrado (grãos e outros ingredientes) nas dietas está relacionado à melhoria da digestibilidade e da conversão alimentar dos animais (Junior et al., 2000; Salomão et al., 2015; Silva, 2015), podendo proporcionar redução no tempo de confinamento, na produtividade e lucratividade do sistema. Esse conjunto de vantagens, potencializado pela oferta de grãos a preços reduzidos em algumas regiões do país, tem levado os nutricionistas a adotarem teores cada vez maiores de concentrado nas dietas (Pinto et al., 2016). Com relação aos tipos de grãos utilizados, o milho do tipo duro ou *flint* aparece como o principal, seguido pelo sorgo (Oliveira e Millen, 2014).

Nota-se que o aumento da concentração de grãos nas dietas pode trazer vantagens sobre aspectos produtivos e econômicos, porém, existem problemas inerentes a essa prática como, por exemplo, a concorrência direta pela utilização dos grãos com a indústria alimentícia e a flutuação dos preços destes insumos nos períodos de safra e entressafra. Uma forma de controle da volatilidade nos preços dos grãos é o armazenamento, que possibilita a compra do produto no período de safra, quando os preços estão menores, para utilização no período de entressafra, gerando uma economia ao produtor. Entretanto, fungos e insetos somados a ataques de roedores são problemas que têm causado perdas em torno de 15% ao produtor, e estão relacionadas ao armazenamento inadequado do produto (EMBRAPA, 2015).

Além disso, em termos de utilização de grãos como fonte energética em dietas para bovinos no Brasil, o principal interesse é no amido contido nestes grãos. Porém, o tipo e quantidade de proteínas que envolvem os grânulos de amido podem afetar sua disponibilidade ao animal. Segundo Kakade (1974), proteínas de sementes podem ser classificadas em quatro frações de acordo com sua solubilidade, sendo elas: 1) solução aquosa (albuminas); 2) solução

salina (globulinas); 3) solução em álcool 70% (prolaminas); 4) solução alcalina ou ácida (glutelinas).

Em grãos de cereais destinados à alimentação de bovinos, as prolaminas e glutelinas representam as proteínas que merecem maior atenção por serem insolúveis e de provável resistência à degradação ruminal (Sniffen, 1974). As prolaminas são responsáveis pela formação de corpos proteicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma. Por apresentarem a matriz proteica muito resistente (Rooney e Pflugfelder, 1986), mesmo quando triturados ou parcialmente quebrados, os grânulos de amido do milho e sorgo podem apresentar maior resistência à degradação microbiana no rúmen e à digestão enzimática no intestino delgado (Jobim e Reis, 2001).

Sabe-se que o método de processamento do grão pode acarretar em melhora na digestibilidade quando comparado à sua forma natural (Owens et al., 1986). No Brasil, métodos primários de beneficiamento, como a moagem, são os mais praticados (Pinto et al., 2016). Em virtude da perda relativamente alta de amido nas fezes dos bovinos alimentados com altos níveis de grãos (Olbrich Jr., 1996), verifica-se o aumento do interesse de nutricionistas na busca de processamentos mais elaborados que melhorem a digestibilidade do amido nos grãos (Pinto et al., 2016).

Neste contexto, uma alternativa se baseia no processo de reconstituição, também conhecido como reconstituição, que se calca em devolver ao grão maduro, seco e moído, a umidade necessária para que o mesmo possa ser fermentado após a ensilagem (Defoor et al., 2006; Andrade Filho, 2010). A reconstituição é um processo diferente da silagem de grão úmido ou silagem de grão com alta umidade, onde o grão é colhido no campo ainda com a umidade adequada, não necessitando ser hidratado antes do processo de ensilagem. Segundo Hamaker et al. (1995), o milho colhido maduro possui mais prolaminas quando comparado ao colhido imaturo, com maior umidade, porém, no processo de reconstituição essas proteínas

são quebradas, fazendo com que praticamente não hajam diferenças nutricionais entre a silagem de grão reconstituído e a silagem de grão úmido.

A temperatura, umidade e as ações de ácidos orgânicos produzidos durante o processo de reconstituição podem causar a quebra da matriz proteica que recobre os grânulos de amido, ou até mesmo da própria estrutura desses grânulos, aumentando assim a área exposta à ação enzimática dos microrganismos dos animais (Hoffman e Shaver, 2011), isso possibilita a melhora da capacidade fermentativa no rúmen, aumentando a síntese de proteína microbiana e a produção de ácidos graxos voláteis (Allen et al., 2009).

Alguns autores (Oba e Allen 2003b; Henrique et al., 2007, Arcari, 2013) relataram aumento na digestibilidade do amido, da proteína, além da melhora no desempenho de animais alimentados com dietas à base de grãos ensilados. A melhora no desempenho parece estar relacionada à redução do consumo e manutenção da produção, sendo estes fatores de extrema importância para aumento da produtividade, redução nos custos de produção e na excreção de nutrientes para o ambiente.

Além disso, o processo de reconstituição permite o armazenamento do grão durante vários meses, sendo este um modo de agregar valor e qualidade ao produto (Arcari, 2013), por diversos fatores, dentre estes: 1) os custos que muitos produtores tem com os processos de limpeza e secagem dos grãos são muito elevados (Back e Lazzari, 2001); 2) menores perdas qualitativas e quantitativas em função do ataque de insetos e ratos (Jobim et al., 2001); 3) melhora da digestibilidade com o aumento do tempo de ensilagem e redução de perdas decorrentes de encargos da armazenagem terceirizada (Arcari, 2013); 4) redução de custos com transporte e perdas ocasionadas pelo próprio transporte e/ou armazenagem em silos graneleiros (Bitencourt, 2012).

Apesar de ser atrativa financeiramente e de existir relatos dos seus benefícios no desempenho animal, não existem estudos na literatura nacional consultada que avaliaram o

fluxo de nutrientes de dietas a base de milho e sorgo reconstituídos utilizando machos Nelore. Este conhecimento é de extrema importância, uma vez que a alteração do local de digestão pode afetar a eficiência no uso da energia e justificar diferenças no desempenho dos animais.

Existem divergências quanto à eficiência no uso da energia pelos animais, sendo que, alguns autores (Alio et al., 2000; Lozano et al., 2000), avaliando o desempenho de novilhos de corte, verificaram o aumento do desempenho quando as fontes de amido foram mais degradadas no rúmen em relação ao intestino, enquanto outros estudos (Owens et al., 1986; Harmon e McLeod, 2001) relataram maior eficiência no uso de energia quando o amido é mais digerido no intestino em relação à digestão ruminal.

Para Moharrery et al. (2014), a avaliação da digestibilidade de dietas com elevados níveis de amido deve ser feita de forma criteriosa, uma vez que, o amido digerido no rúmen constitui importante fonte de energia tanto para os microrganismos ruminais, quanto para o animal hospedeiro. Além disso, pode existir correlação negativa entre o amido ruminal e a digestão da FDN (Volden e Larsen, 2011).

A preocupação da comunidade com o bem-estar animal faz com que ocorra maior pressão sobre os comitês de ética, que vêm criando protocolos cada vez mais rigorosos e incentivando a redução ou, quando possível, a substituição dos animais por métodos laboratoriais alternativos.

Uma alternativa ao ensaio de digestibilidade *in vivo* é o método *in situ*, que embora utilize animais fistulados, é uma opção viável para reduzir o número de animais, o tempo para coleta e obtenção dos dados e resultados, os custos com mão de obra e a quantidade de alimento a ser utilizada. Outra possibilidade é o método *in vitro*, em que é possível avaliar grande número de alimentos ou dietas de uma única vez, podendo ainda, utilizar uma menor quantidade de amostra e menor número de animais quando comparada aos demais tipos de procedimentos.

A correlação entre os métodos *in situ* e *in vitro* foi estimada por vários trabalhos (Rymer e Givens, 2002; Gosselink et al., 2004; Suksombat e Mernkrathoke, 2005), no entanto, são poucos os trabalhos correlacionando as degradabilidades *in situ* ou *in vitro* com os valores de digestibilidade *in vivo* (Pereira, 2015; Pacheco, 2015; Silva, 2015). Grande parte dos trabalhos encontrados avaliam apenas alimentos (Arcari, 2013; Ferraretto et al., 2015; Holt et al., 2016) e não dietas completas, deixando de levar em consideração o efeito associativo entre os mesmos.

Neste contexto, têm-se como hipóteses que o fornecimento de silagens de grãos de milho ou sorgo reconstituídos reduz o consumo de matéria seca e promove alterações dos locais de digestão dos principais componentes da dieta, além disso, a digestibilidade *in vivo* da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e amido pode ser estimada por diferentes tempos de incubação ruminal *in situ* e *in vitro*.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito da ensilagem de grãos de milho ou sorgo reconstituídos sobre a digestão ruminal, intestinal e total do amido e demais componentes da dieta em machos Nelore, bem como, avaliar os tempos necessários para estimar a digestibilidade *in vivo* da MS, MO e amido de dietas completas através de procedimentos *in situ* e *in vitro*.

REFERÊNCIAS

- ALIO, A., THEURER, C. B., LOZANO, O., HUBER, J. T., SWINGLE, R. S., DELGADO-ELORDUY, A., CUNEO, P., DeYOUNG, D., WEBB, K. E. Splanchnic nitrogen metabolism by growing beef steers fed diets containing sorghum grain flaked at different densities. *Journal of Animal Science*, v. 78, n. 5, p. 1355-1363, 2000.
- ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J., OBA, M. Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science*, v. 87, n. 10, p. 3317-3334, 2009.

- ANDRADE FILHO, R. Reconstituição, inoculação e ensilagem de grãos de milho maduros. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 47., 2010, Salvador. Anais... Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.
- ARCARI, M. A. Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reconstituído e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso. 2014. 98f. Dissertação Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, Pirassununga, Brasil. 2013.
- 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, Ed. Leal Ltda, Curitiba, p, 1-6, 2001.
- BITENCOURT, L. L. Substituição de milho moído por milho reconstituído e ensilado ou melaço de soja em vacas leiteiras. 140p. Tese Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil. 2012.
- DEFOOR, P. J., BROWN, M. S., OWENS, F. N. Reconstitution of grain sorghum for ruminants. In: GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, Oklahoma. Proceedings... Oklahoma: CGP, p. 93-98, 2006.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2015. Notícias: Armazenamento inadequado de grãos resulta em cerca de 15% de perdas. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/3860638/armazenamento-inadequado-de-graos-resulta-em-cerca-de-15-de-perdas>. Acessado em: 15/12/2017.
- FERRARETTO, L. F., FREDIN, S. M., SHAVER, R. D. Influence of ensiling, exogenous protease addition, and bacterial inoculation on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal in vitro starch digestibility in reconstituted and high-moisture corn. Journal of Dairy Science, v. 98, n. 10, p. 7318-7327, 2015.

- GOSSELINK, J. M. J., DULPHY, J. P., PONCET, C., JAILLER, M., TAMMINGA, S., CONE, J. W. Prediction of forage digestibility in ruminants using in situ and in vitro techniques. *Animal Feed Science and Technology*, v. 115, n. 3, p. 227-246, 2004.
- 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. E-Suppl, p. E59-E72, 2001.
- HENRIQUE, W., BELTRAME FILHO, J. A., LEME, P. R., LANNA, D. P. D., ALLEONI, G. F., COUTINHO FILHO, J. L., SAMPAIO, A. A. M. Avaliação da silagem de grãos de milho úmido com diferentes volumosos para tourinhos em terminação: desempenho e características da carcaça. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, n. 1, p. 183-190, 2007.
- HOFFMAN, P. C., SHAVER, R. D. The nutritional chemistry of dry and high moisture corn. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE. University of Wisconsin-Madison, Department of Dairy Science, The University of Arizona, Department of Animal Sciences. p. 12- 23, 2011.
- HOLT, M. S., YANG, S. Y., CREECH, J. E., EUN, J. S., YOUNG, A. J. In situ ruminal degradation kinetics of corn silage hybrids harvested prior to or at maturity in dry and lactating dairy cows. *Journal of Animal and Plant Sciences*, v. 26, p. 46-53, 2016.
- JOBIM, C. C., REIS, R. A. Produção e utilização de silagem de grãos úmidos de milho. Workshop sobre silagem. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia,

- 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.912-927, 2001.
- JÚNIOR, A. G., PAULINO, M. F., FILHO, S. D. C. V., DA SILVA, J. F. C., VELOSO, C. M., CECON, P. R. Níveis de concentrado na dieta de novilhos F1 Limousin x Nelore: consumo, conversão alimentar e ganho de peso. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n. 5, p. 1458-1466, 2000.
- KAKADE, M. L. Biochemical basis for the differences in plant protein utilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 22, n. 4, p. 550-555, 1974.
- LOZANO, O., THEURER, C. B., ALIO, A., HUBER, J. T., DELGADO-ELORDUY, A., CUNEO, P., DeYOUNG, 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, p. 1364-1371, 2000.
- MILLEN, D. D., PACHECO, R. D. L., ARRIGONI, M. D. B., GALYEAN, M. L., VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. *Journal of Animal Science*, v. 87, n. 10, p. 3427-3439, 2009.
- MOHARRERY, A., LARSEN, M., WEISBJERG, M. R. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows—A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, v. 192, p. 1-14, 2014.
- 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, n. 1, p. 174-183, 2003.

- OLBRICH JR., J. F. The effect of corn particle size and corn silage level on the performance of Angus (*Bos taurus*) and Brahman (*Bos indicus*) steers. PhD. Dissertation. University Florida, Gainesville. 1996.
- OLIVEIRA, C. A., MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Animal Feed Science and Technology*, v. 197, p. 64-75, 2014.
- OWENS, F., ZINN, R. A., & KIM, Y. K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of Animal Science*, v. 63, n. 5, p. 1634-1648, 1986.
- PACHECO, M. V. C. Técnicas de Incubação Ruminal *In Situ* e *In Vitro* para Estimar a Digestibilidade *In Vivo* de Dietas com Diferentes Níveis de Proteína Bruta. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2015.
- PEREIRA, J. M. V. Degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vivo* de dietas à base de silagem de milho e cana de açúcar com ou sem suplementação mineral. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2015.
- PINTO, A.C.J., MILLEN, D.D. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: X Simpósio Internacional de Produção de Bovinos de Corte, Viçosa. Anais... Viçosa: DZO-UFV, 103-120, 2016.
- 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.
- RYMER, C., GIVENS, D. I. Relationships between patterns of rumen fermentation measured in sheep and *in situ* degradability and the *in vitro* gas production profile of the diet. *Animal Feed Science and Technology*, v. 101, n. 1, p. 31-44, 2002.
- SALOMÃO, B. M., VALADARES FILHO, S. C., VILLELA, S. D. J., SANTOS, S. A., COSTA E SILVA, L. F., ROTTA, P. P. Desempenho produtivo de bovinos

- alimentados com cana-de-açúcar com diferentes níveis de concentrado. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 67, n. 4, p. 1077-1086, 2015.
- SILVA, B. C. Estimativa da digestibilidade *in vivo* através de procedimentos de incubação ruminal *in situ* e *in vitro* em dietas à base de cana de açúcar e silagem de milho para bovinos. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2015.
- SILVA, F. A. S. Desempenho, produção de metano entérico, eficiência de utilização da energia, metabolismo proteico muscular e exigências nutricionais de novilhas holandês × zebu alimentadas com silagem de milho ou cana de açúcar . 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2015.
- 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 University, Ithaca, p. 12, 1974.
- SUKSOMBAT, W., MERNKRATHOKE, P. Feeding of whole sugar cane to dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. Journal of Animal Science, v. 18, n. 3, p. 345-349, 2005.
- VOLDEN, H., LARSEN, M. Digestion and metabolism in the gastrointestinal tract. In: The Nordic feed evaluation system. Wageningen Academic Publishers, p. 59-80, 2011.

CAPÍTULO 1

Efeito da ensilagem do milho e sorgo reconstituídos sobre os locais de digestão em bovinos Nelore

Resumo – Objetivou-se avaliar o efeito do teor de concentrado na dieta e da ensilagem dos grãos de milho e sorgo reconstituídos sobre a digestão ruminal, intestinal e total do amido e demais componentes da dieta em machos Nelore. Foram utilizados 5 bovinos machos, não castrados, da raça Nelore com idade média de 8 ± 1 meses e peso corporal médio de 262 ± 18 kg, distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 5×5 , sendo cinco dietas e cinco períodos, com arranjo fatorial $2 \times 2 + 1$. Foram avaliadas cinco dietas experimentais, das quais, quatro foram compostas de 28,44% de silagem de milho, 60,83% de grãos de milho moído seco (MMS), sorgo moído seco (SMS), silagem de grãos de milho reconstituídos (SMR) ou silagem de grãos de sorgo reconstituídos (SSR) e 10,73% de suplemento proteico mineral. Avaliou-se ainda, uma dieta com menor teor de concentrado (CTL) composta de 45% de silagem de milho, 44,27% de milho moído seco e 10,73% de suplemento proteico mineral. O suplemento proteico mineral foi composto de: 62,90% de farelo de soja, 27,40% de núcleo mineral Nutronbeef[®], 9,70% de ureia + sulfato de amônio na proporção 9:1. Aproximadamente 60 dias antes do início do experimento procedeu-se à reconstituição e ensilagem dos grãos, que tiveram a matéria seca ajustada para aproximadamente 65%. Cada um dos cinco períodos experimentais teve duração de 23 dias, sendo 14 para adaptação e 9 dias de coleta. Do 15º ao 19º dia foi realizada coleta total de fezes, urina e mensurado o pH ruminal, utilizando-se um bolus inserido no rúmen de cada animal, via fístula. Do 20º ao 22º dia foram realizadas oito coletas de digesta omasal com intervalo de 9 horas. Os fluxos dos constituintes da digesta omasal foram estimados pelo sistema de indicador duplo, sendo utilizada a fibra insolúvel em detergente neutro indigestível como indicador de fase sólida e o Co-EDTA para fase líquida e de pequenas partículas. Os dados foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS e, quando pertinente, as médias comparadas utilizando-se o teste Tukey, considerando 5% como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. Houve tendência ($P < 0,10$) de redução no consumo de MS e de MO para as dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. Com relação aos consumos de FDNcp e de amido, houve redução ($P < 0,05$) quando os animais receberam dieta com menor teor de concentrado e também para as dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. O consumo de proteína bruta (PB) não foi afetado ($P > 0,05$) pelos fatores avaliados. Quanto às digestibilidades ruminais, houve redução ($P < 0,05$) para MS, MO, FDNcp, PB e amido para animais recebendo silagens de

grãos reconstituídos. O menor teor de concentrado na dieta reduziu ($P < 0,05$) a digestibilidade ruminal da MS, MO e amido. Dietas à base de milho apresentaram maiores ($P < 0,05$) digestibilidades intestinais para MS, MO, PB e amido, quando comparadas a dietas à base de sorgo. O mesmo efeito foi verificado para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. Houve tendência de aumento ($P < 0,10$) da eficiência microbiana para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos em relação aos grãos secos. Houve efeito ($P < 0,05$) do tipo de grão sobre as concentrações totais de AGV (mmol/dL), sendo maiores valores observados para o milho em relação ao sorgo. A dieta com maior teor de concentrado e dietas à base de milho apresentaram maiores ($P < 0,05$) proporções molares de propionato e menor ($P < 0,05$) relação acetato:propionato. Conclui-se que, dietas à base de silagem de grãos reconstituídos aumentam a eficiência microbiana, reduzem a ingestão de amido e alteram os locais de digestão dos componentes das dietas.

Palavras chaves: ácidos graxos voláteis, eficiência microbiana, processamento

CHAPTER 1

Effects of ensiling reconstituted corn or sorghum grains on digestion sites in Nellore cattle

Abstract – The experiment was developed aiming to evaluate effects of ensiling reconstituted corn or sorghum grains, and different levels of concentrate in the diet on ruminal, intestinal, and total tract digestion of starch and other nutrients of Nellore bulls. Five Nellore bulls with an average age of 8 ± 1 months and an average bodyweight of 262 ± 18 kg were used. The bulls were distributed in a 5×5 latin square design, with 5 diets and 5 periods, using a $2 \times 2 + 1$ factorial scheme. Four of the five diets were composed of 28.44% corn silage, 10.73% protein and mineral supplement, and 60.83% ground corn (GC); or ground sorghum (GS); or reconstituted corn grain silage (RCS); or reconstituted sorghum grain silage (RSS). A greater roughage:concentrate ratio diet composed of 45% corn silage, 10.73% protein and mineral supplement, and 44.27% ground corn (GRC) was also evaluated. The protein and mineral supplement were composed of 62.90% soybean meal, 27.40% mineral mixture Nutronbeef[®], 9.70% mixture of urea + ammonium sulfate (9:1). The rehydration and ensiling of the corn and sorghum grains were performed approximately 60 days before the beginning of the experiment. Rehydration process consisted in adjust grain DM to approximately 65%. Each period lasted 23 days, being 14 days for acclimation and 9 days of data collection. From the 15th to 19th days, total fecal and urine collections were performed, and ruminal pH was measured using a bolus inserted to ruminal fistula. From the 20th to 22th day, eight samples of omasal digesta were performed in a 9-h interval. The flows of the omasal digesta constituents were estimated using the double marker system, with indigestible neutral detergent fiber (iNDF) as solid phase marker and Co-EDTA for liquid phase and small particles. Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS. Means were compared using Tukey test, considering 5% as the critical probability level. Compared to GC and GS diets, rehydration and ensiling processes tended to reduce ($P < 0.10$) DM and OM intakes. Greater ($P < 0.05$) starch and NDFap intakes were observed for GC diet compared to GRC diet, and for GC and GS diets compared to RCS and RSS diets. There was no effect ($P > 0.05$) of level of concentrate, type of grain or rehydration and ensiling processes on crude protein (CP) intake. Ruminal digestibility of DM, OM, NDFap, CP, and starch were reduced ($P < 0.05$) in bulls fed RCS and RSS diets compared to GC and GS diets. Ruminal digestibility of DM, OM and starch were lower ($P < 0.05$) for the GRC diet compared to GC diet. Corn-based and reconstituted grain silage-based diets had greater ($P < 0.05$) intestinal

digestibility of DM, OM, CP, and starch in relation to sorghum-based and GC and GS-based diets, respectively. Compared to GC and GS diets, rehydration and ensiling processes tended to increase ($P < 0.10$) microbial efficiency. There was no effect ($P > 0.05$) of level of concentrate, type of grain or rehydration and ensiling processes on volatile fatty acids concentration (mmol/dL), but level of concentrate and type of grain affected ($P < 0.05$) molar proportions of propionate and acetate:propionate ratio. Therefore, rehydration and ensiling of corn and sorghum grains increases microbial efficiency, reduces intake, and alters digestion sites of diet constituents, without impairing total amount digested.

Keywords: microbial efficiency, processing, volatile fatty acids

INTRODUÇÃO

A pecuária de corte brasileira, em especial a criação de animais em sistemas intensivos, foi caracterizada pela utilização de uma grande variedade de planos de alimentação. Percebe-se aumento do interesse dos pecuaristas e nutricionistas na utilização de teores cada vez mais elevados de grãos nas dietas de bovinos em confinamento. Em levantamento realizado em 2009 apenas 6,5% dos produtores adotavam inclusões maiores que 66% de grãos na dieta (Millen et al., 2009), atualmente este valor é de 33,3% (Pinto et al., 2016). No entanto, não se sabe até que ponto o aumento nos níveis de concentrado pode comprometer o desempenho animal em condições tropicais, uma vez que, animais zebuínos normalmente são mais susceptíveis a desordens metabólicas ao consumir dietas com alto teor de amido, resultando, algumas vezes, em respostas inconsistentes com o fornecimento deste tipo de dietas (Pacheco et al., 2012; Millen et al., 2015).

O incremento de grãos nas dietas pode gerar alguns entraves, como por exemplo: 1) dificuldade e o alto custo no armazenamento de grãos, além das perdas no decorrer deste processo; 2) flutuação do preço dos grãos durante o período de safra e entressafra; 3) concorrência direta com a indústria alimentícia; 4) pressão da população para o uso racional dos recursos naturais. No Brasil, níveis menores de inclusão de concentrado na dieta geralmente são adotados por confinamentos menores ou em regiões onde o custo dos grãos é elevado, o que pode inviabilizar a atividade.

Práticas que visem o melhor aproveitamento do alimento pelo animal, bem como redução nas perdas ocasionadas durante todas as etapas da criação animal, devem ser avaliadas e sempre que possíveis adotadas. Neste contexto, o processo de reconstituição e ensilagem surge como alternativa ao armazenamento de grãos em silos graneleiros, possibilidade de compra de uma maior quantidade de grãos no período de safra onde o preço é menor e melhoria no aproveitamento de nutrientes provenientes dos grãos (Arcari, 2013).

Diante do exposto, têm-se como hipóteses que a ensilagem de grãos de milho ou sorgo reconstituídos reduz o teor de proteína insolúvel nos grãos e o consumo de matéria seca, além de alterar os locais de digestão dos principais componentes das dietas.

Sendo assim, objetivou-se avaliar o efeito da ensilagem de grãos de milho ou sorgo reconstituídos sobre as frações dos compostos nitrogenados, digestão ruminal, intestinal e total dos componentes da dieta em machos Nelore.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas instalações do Confinamento Experimental do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. Os procedimentos de cuidado aos animais durante o experimento seguiram o protocolo aprovado pelas normas da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Federal de Viçosa, protocolo 42/2016.

Processo de ensilagem

Aproximadamente 60 dias antes do início do experimento, o processo de reconstituição dos grãos de milho e sorgo foi realizado. Cerca de 6000 kg de cada um dos grãos foram moídos em moinho tipo martelo (Modelo: DMP-2; Nogueiras; São João da Boa Vista - SP - Brasil) com peneiras de porosidade 3 mm, sendo em seguida mensurado o teor de matéria seca dos alimentos. Posteriormente, foi realizada a adição de água até que fosse atingido o teor de aproximadamente 35% de umidade, conforme a fórmula descrita abaixo.

$$\textit{Quantidade de água} = \frac{\text{MS grão} - \text{MS esperada}}{\text{MS esperada}}$$

em que: *Quantidade de água* = quantidade de água adicionada no grão expressa em L/kg de matéria natural; *MS grão* = matéria seca do grão (%); *MS esperada*: matéria seca esperada após o processo de reconstituição.

O grão foi misturado à quantidade de água pré-estabelecida utilizando uma betoneira (Rental 250L; Menegotti; Jaguará do Sul – SC – Brasil), sendo em seguida, ensilado em silos tipo manilha de 1 m³, na densidade aproximada de 1000 kg/m³. Os silos foram cobertos por lona e foi adicionada uma camada de terra de aproximadamente 10 cm.

Além disso, os grãos de milho e sorgo foram moídos e ensilados em silos tipo bag por 0, 7, 14, 28, 45, 60, 90, 120, 180 e 360 dias, para quantificação dos teores de nitrogênio não proteico, nitrogênio proteico solúvel, nitrogênio proteico insolúvel e nitrogênio insolúvel em detergente neutro. Foram feitas três repetições por tempo de ensilagem por tipo de grão. Nas datas preestabelecidas os silos bag foram abertos, uma amostra foi retirada, congelada -80°C e liofilizada, sendo armazenada para posteriores análises.

Animais, instalações, dietas e delineamento experimental

Foram utilizados cinco animais machos não castrados da raça Nelore com idade média de 8±1 meses e peso corporal médio de 262±18 kg. Os animais foram inicialmente identificados e tratados contra endo e ectoparasitas, sendo, em seguida, alocados em sistema *tie stall* durante 30 dias para adaptação às instalações e recebimento de três doses de vacina antitetânica. As baias foram providas de piso e comedouros de concreto, além, de bebedouros automáticos individuais com água limpa e fresca permanentemente à disposição. Posteriormente, os animais foram fistulados no rúmen e ficaram por mais 30 dias para a recuperação da cirurgia, onde receberam diariamente silagem de milho a vontade e 1,5 kg de concentrado com aproximadamente 120 g de proteína bruta (PB)/kg de MS.

Foram avaliadas cinco dietas experimentais, das quais quatro eram compostas de 28,44% de silagem de milho, 60,83% de grãos de milho moído seco (MMS), sorgo moído seco (SMS), silagem de grãos de milho reconstituídos (SMR) ou silagem de grãos de sorgo reconstituídos (SSR) e 10,73% de suplemento proteico mineral. Avaliou-se ainda uma dieta com menor teor de concentrado (CTL) composta de 45% de silagem de milho, 44,27% de

milho moído seco e 10,73% de suplemento proteico mineral. O suplemento proteico mineral foi composto de: 62,90% de farelo de soja, 27,40% de núcleo mineral Nutronbeef[®], 9,70% de ureia + sulfato de amônio na proporção 9:1. A composição química dos alimentos utilizados nas dietas experimentais está apresentada na Tabela 1 e a proporção dos alimentos nas dietas e composição química das dietas são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1 - Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Ingredientes	MS ¹	MO ²	PB ³	EE ⁴	FDNcp ⁵	CNF ⁶	FDNi ⁷	Amido
	g/kg de MS ¹							
Silagem de milho	269	920	67,7	33,6	501	318	194	214
Milho moído	878	988	88,0	52,6	94,0	753	11,1	745
Milho reconstituído	622	987	89,0	53,7	62,2	777	11,9	747
Sorgo moído	874	989	88,9	34,1	75,9	771	12,4	750
Sorgo reconstituído	629	986	87,0	32,5	64,9	799	12,1	739
Farelo de soja	883	930	495	13,4	124	298	15,0	65,5
Nutronbeef [®]	978	149	-	-	-	-	-	-
Ureia + SA*	969	996	2631	-	-	-	-	-

*Proporção ureia/sulfato de amônio de 9:1; ¹Matéria seca; ²Matéria orgânica; ³Proteína bruta; ⁴Extrato etéreo; ⁵Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína bruta; ⁶Carboidratos não fibrosos; ⁷Fibra insolúvel em detergente neutro indigestível

As dietas foram isoproteicas, com aproximadamente 130g de PB/kg MS, formuladas para ganho de 1,2 kg/dia de acordo com as recomendações do BR-CORTE (Valadares Filho et al., 2010).

Um dia antes do início de cada período de coleta (14^o dia experimental), foi realizada estimativa do teor de matéria seca do volumoso e dos grãos reconstituídos no intuito de ajustar a quantidade de cada ingrediente da dieta fornecida aos animais.

Os grãos (milho ou sorgo), a silagem de milho e o suplemento proteico mineral foram pesados separadamente, posteriormente misturados e fornecidos aos animais, sempre às 8h00 e 15h00. A dieta foi ajustada diariamente para que as sobras fossem mantidas entre 5 e 10% do ofertado.

Tabela 2 - Proporções dos ingredientes e composição química das dietas com base na matéria seca

Itens	Dietas				
	CTL ⁸	Milho		Sorgo	
		MMS ⁹	SMR ¹⁰	SMS ¹¹	SSR ¹²
	Proporção dos alimentos (g/kg de MS ¹)				
Silagem de Milho	450,0	284,4	284,4	284,4	284,4
Milho	442,7	608,3	-	-	-
Milho Reconstituído	-	-	608,3	-	-
Sorgo	-	-	-	608,3	-
Sorgo Reconstituído	-	-	-	-	608,3
Farelo de soja	67,5	67,5	67,5	67,5	67,5
Nutronbeef	29,4	29,4	29,4	29,4	29,4
Ureia + SA*	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4
	Composição química (g/kg de MS ¹)				
MS ¹	434	541	539	465	468
MO ²	929	930	931	930	929
PB ³	127	134	134	134	133
EE ⁴	40,3	42,4	31,2	43,1	30,2
FDNcp ⁵	282	208	208	192	192
CNF ⁶	506	563	575	578	590
FDNi ⁷	87,8	62,1	62,3	62,9	62,5
Amido	445	518	521	519	515

*Proporção ureia/sulfato de amônio de 9:1; ¹Matéria seca; ²Matéria orgânica; ³Proteína bruta; ⁴Extrato etéreo; ⁵Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína bruta; ⁶Carboidratos não fibrosos ; ⁷Fibra insolúvel em detergente neutro indigestível; ⁸Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ⁹Dieta à base de milho moído seco; ¹⁰Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ¹¹Dieta à base de sorgo moído seco; ¹²Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído

A avaliação dos silos tipo bag foi realizada de acordo com delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2×10, onde foram utilizados dois tipos de grãos moídos (milho ou sorgo) e dez tempos de ensilagem.

O experimento foi delineado em esquema quadrado latino 5×5, com arranjo fatorial 2×2+1, onde foram utilizados dois tipos de grãos moídos (milho ou sorgo) e dois processamentos (reconstituído ou não), mais uma dieta controle a base de milho seco moído

com menor relação volumoso:concentrado (45:55), sendo essa uma dieta comumente utilizada em confinamentos de menor porte no Brasil.

Os períodos experimentais foram de 23 dias cada, sendo que: do 1° ao 14° dia: adaptação às dietas experimentais (Machado et al., 2016); 15° ao 23° dia: procedimento de coleta.

Mensuração do consumo e amostragem de ingredientes da dieta e sobras

O consumo dos animais foi mensurado do 15° até o 23° dia de cada período experimental.

Os ingredientes das dietas, exceto o suplemento proteico mineral, e as sobras de cada animal foram amostrados diariamente após os 14 dias de adaptação às dietas experimentais, sendo imediatamente acondicionadas a -20°C. As sobras foram amostradas em torno de 10% do total. Uma amostra composta foi realizada por período, de cada ingrediente das dietas e das sobras de cada animal, sendo submetida à secagem em estufa com circulação forçada (55°C) por 72 horas e moídas em moinho de facas a 2 e 1 mm para posteriores análises laboratoriais. Os ingredientes do suplemento proteico mineral foram amostrados diretamente dos silos da fábrica de ração nos dias da confecção das misturas.

Coleta total de fezes e urina

Os animais foram submetidos à coleta total de fezes e urina durante cinco dias consecutivos, iniciando-se no 15° dia de cada período experimental. As fezes foram coletadas diretamente no piso de concreto e colocadas em baldes previamente pesados e com tampa. As amostras de urina foram coletadas com o auxílio de funis coletores presos aos animais e acoplados a galões plásticos, sendo que, os mesmos ficaram acondicionados em caixas de isopor com gelo. Ao final de 24 horas de coleta, os baldes contendo as fezes foram pesados, homogeneizados e uma amostra de aproximadamente 250 gramas foi acondicionada em bandeja de alumínio previamente pesada, para secagem em estufa com ventilação forçada a

55°C durante 72 horas. Após o período de secagem, as amostras dos cinco dias de coleta foram moídas em moinho de facas a 1 mm e foi realizada uma amostra composta proporcional ao peso seco total das fezes de cada dia de coleta, sendo estas acondicionadas em potes plásticos para análises futuras.

Além disso, juntamente com a amostragem diária das fezes no período de coleta, os pesos e os volumes urinários foram mensurados com a utilização de proveta graduada, sendo realizada retirada de duas amostras proporcionais ao volume urinário, uma amostra da urina concentrada e outra que foi diluída em ácido sulfúrico na concentração de 0,036N, em seguida armazenadas a -20°C.

Coleta de digesta omasal

A coleta de digesta omasal foi realizada do 20° ao 22° dia do período experimental. A partir do 17° dia do período experimental até a última coleta de digesta omasal no 22° dia, foi realizada a infusão contínua de Co-EDTA (5,0 g/dia de Co- EDTA), diluídas em 2,7 L de água destilada, pela fistula ruminal, utilizando duas bombas peristálticas (modelo BP-600.4; Milan Equipamentos Científicos, Colombo, Paraná, Brasil). Foram realizadas oito coletas de digesta omasal com intervalo de nove horas, totalizando três dias de coletas por período experimental. Os horários das coletas foram: 8h00, 17h00, 2h00, 11h00, 20h00, 5h00, 14h00 e 23h00. Para a realização da coleta foi utilizada a técnica de Huhtanen et al. (1997), adaptada por Leão (2002).

Foi utilizado o sistema de indicador duplo para estimar o fluxo omasal da digesta, onde foi utilizado o Co-EDTA como o indicador de fase líquida e o FDNi como indicador de fase sólida conforme proposto por Rotta et al. (2014). Para isso, em cada horário de coleta uma amostra de aproximadamente 200 ml de digesta omasal foi filtrada em filtro de náilon 100 µm (Sefar Nitex 100/44, Sefar, Thal, Switzerland) obtendo assim duas fases. As duas fases foram acondicionadas separadamente em um recipiente plástico, previamente pesado, e levadas para

freezer -80°C para posterior liofilização. Depois de liofilizados, as digestas referentes aos oito horários de coleta foram agrupadas em uma amostra composta de líquido e outra de partículas, obtendo assim duas amostras de omaso por animal por período, sendo essas moídas em moinhos de faca com peneiras de crivo de 1 e 2 mm para análises posteriores.

Avaliação do pH ruminal

A mensuração do pH ruminal foi realizada durante o período de digestibilidade *in vivo* do 15° ao 19° dia do período experimental e as leituras foram realizadas a cada 15 minutos durante todos os dias utilizando bolus ruminal WellCow™.

Coletas de líquido ruminal e sangue

Para avaliação de ácidos graxos voláteis (AGV) foram realizadas coletas de líquido ruminal em três horários: 1 hora antes da alimentação, 2 e 4 horas após o fornecimento das dietas, sempre no 23° dia do período experimental. As amostras foram coletadas manualmente em cinco pontos diferentes na interface líquido-sólido do rúmen, filtradas em camada tripla de gaze. Em seguida, uma alíquota de 20 mL foi fixada com 5 mL de ácido metafosfórico (25% p/v) e armazenada à -20°C, para posterior avaliação da concentração de AGV. No mesmo dia e horários, foram realizadas coletas de sangue, por punção da veia jugular, em tubos com vácuo, contendo potássio EDTA para análise de glicose circulante. Os tubos foram acondicionados em caixa de isopor com gelo e posteriormente centrifugados a 3000 × g por 20 minutos. Uma amostra destinada a análise de glicose foi levada imediatamente para análise em laboratório.

Análises químicas

As amostras de digestas omasais, fezes, alimentos e sobras foram analisadas quanto a matéria seca (MS) segundo método INCT - CA G-003/1, matéria mineral (MM) segundo método INCT- CA M-001/1, proteína bruta (PB) segundo método INCT - CA N-001/1, fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) segundo método INCT - CA F-001/1 e correções para

proteína e cinzas, respectivamente, segundo métodos INCT - CA N-004/1 e INCT - CA M-002/1 (Detmann et al., 2012). A FDNi foi estimada em triplicatas na digesta omasal (fases de partículas e líquida) assim como os constituintes da dieta e sobras conforme técnica descrita por Detmann et al. (2012). Os carboidratos não fibrosos foram calculados conforme Detmann e Valadares Filho (2010). A análise de amido foi realizada seguindo recomendações de Zinn (1990a).

O nitrogênio não proteico (NNP) foi estimado pela diferença entre o nitrogênio total e o nitrogênio insolúvel em ácido tricloroacético, o qual foi obtido por intermédio do tratamento de aproximadamente 500 mg da amostra com 50 mL de água destilada, permanecendo por 30 minutos; posteriormente, foram adicionados 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% por 30 minutos (Licitra et al., 1996). O resíduo remanescente foi filtrado em papel-filtro quantitativo (100 g/m²), lavado com água e determinado o nitrogênio residual.

O nitrogênio insolúvel foi estimado a partir do tratamento de 500 mg da amostra com tampão borato-fosfato (NaH₂PO₄.H₂O a 12,2 g/L + Na₂B₄O₇.10 H₂O a 8,91 g/L + 100 mL/L de álcool butílico terciário) durante três horas, sendo determinado o N residual. Pela diferença entre o nitrogênio total e o nitrogênio insolúvel, foi obtido o nitrogênio solúvel total (NNP + proteína solúvel), do qual foi descontado o NNP, para obtenção da fração solúvel proteica (Licitra et al., 1996).

As amostras de digesta omasal foram submetidas a análise de cobalto as quais foram analisadas em espectrofotometro de absorção atômica (SPCTR AA-800; Varian espectrometro, Harbour City, CA) após digestão nitroperclórica. A solução mineral foi preparada segundo método INCT-CA M-004/1 descrito por Detmann et al. (2012).

Para mensurar as concentrações de AGV, uma alíquota de 2 mL da amostra fixada com ácido metafosfórico foi centrifugada a 38.000 g por 15 minutos, sendo o sobrenadante utilizado para as leituras realizadas via HPLC (SHIMADZU SPD-10 A VP), com detector

ultravioleta e em comprimento de onda 210 nm. A coluna utilizada foi C18 (fase reversa). Foi utilizado ácido fórmico 0,1% em água, como fase móvel, sendo o fluxo de 1.5 mL/min, pressão da coluna de 168 kgf e volume injetado de 20 µL.

A produção de proteína microbiana foi estimada a partir da excreção de derivados de purina na urina (Barbosa et al., 2011).

O fluxo da digesta omasal foi estimado pela técnica de reconstituição da digesta desenvolvida por Faichney (1975) utilizando o sistema de indicador duplo (Rotta et al., 2014). Foi calculado o fator de reconstituição baseado nas concentrações dos indicadores nas diferentes fases da digesta, conforme France e Siddons (1986).

Análises estatísticas

As variáveis referentes aos compostos nitrogenados foram avaliadas utilizando o PROC MIXED do SAS, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC) seguindo o seguinte modelo geral:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + t_j + g_i t_j + e_{ijk}$$

em que: Y_{ij} = variável resposta; μ = constante geral; g_i = efeito do grão i (efeito fixo); t_j = efeito do tempo j (efeito fixo); e_{ijk} = erro aleatório residual.

As variáveis referentes ao consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e total dos componentes das dietas, foram avaliadas utilizando o PROC MIXED do SAS, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC) seguindo o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + a_j + p_k + e_{ijk}$$

em que: Y_{ijk} = variável resposta; μ = constante geral; D_i = efeito da dieta i (efeito fixo); a_j = efeito do animal j (efeito aleatório); p_k = efeito do período experimental k (efeito aleatório); e_{ijk} = erro aleatório residual.

Com intuito de verificar questões biologicamente relevantes do efeito fixo, quatro contrastes foram testados. O primeiro contraste testou a diferença entre a dieta controle e a dieta à base de milho moído seco (MMS). Os outros três contrastes testaram os efeitos do tipo

de grão, do método de processamento e a sua interação, sendo considerando 5% como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I e 10% para tendência.

As médias dos três horários de coleta referentes à glicose circulante e concentração de AGV foram avaliadas pelo modelo descrito anteriormente.

Com relação ao pH ruminal, os valores foram plotados em gráficos de dispersão por tratamento sendo estes avaliados por integração numérica no tocante à área total (pH × h) localizada acima ou abaixo de patamares teóricos (Detmann et al., 2007) para interpretação do efeito total dos tratamentos ao longo do nictêmero representado por período de 24 horas. Os referenciais para esta avaliação foram: área total abrangida abaixo de pH 5,2, o que representaria quadro de acidose aguda (Krause et al., 2006; Plaizier et al., 2008); área total abrangida abaixo de pH 5,8 para cada tratamento, o que compreenderia quadro total de acidose aguda e sub-aguda (Krause et al., 2006; Plaizier et al., 2008); e área total abrangida com pH acima de 5,8, o que corresponderia as condições adequadas de funcionamento ruminal. Estes dados foram comparados descritivamente.

O tempo, em minutos por dia, foi estimado considerando os mesmos intervalos utilizados para detectar indícios de acidose aguda ou subaguda.

RESULTADOS

Consumo e digestibilidade

Matéria seca e matéria orgânica

Os dados referentes ao consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e aparente total da MS e MO são apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Não houve efeito ($P>0,05$) do teor de concentrado e do tipo de grão utilizado sobre o consumo de matéria seca e de matéria orgânica. Quanto ao tipo de processamento, observou-se tendência ($P<0,10$) de redução do consumo de matéria seca e de matéria orgânica, expressos em kg/dia, para as dietas à base de silagem de grãos reconstituídos.

Tabela 3 - Efeito de diferentes grãos e métodos de processamento no consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e aparente total da matéria seca em bovinos Nelore

Itens	Dietas					EPM ⁶	P – valor			
	CTL ¹	Milho		Sorgo			NC ⁷	Grão (G)	Processamento (P)	G × P
MMS ²		SMR ³	SMS ⁴	SSR ⁵						
Consumo de matéria seca										
kg/dia	5,75	6,06	5,00	5,74	5,62	0,664	0,470	0,634	0,070	0,141
g/kg de PC ⁸	18,9	19,5	16,8	18,7	18,7	1,470	0,695	0,567	0,207	0,214
Digestibilidade ruminal										
kg/dia	2,44	3,06	2,25	3,10	2,68	0,377	0,015	0,147	0,001	0,226
% do total ingerido	43,00	50,45	43,56	52,58	48,63	2,690	0,047	0,156	0,042	0,549
Digestibilidade intestinal										
kg/dia	1,62	1,49	1,71	0,86	1,40	0,186	0,484	0,003	0,010	0,205
% do total ingerido	27,53	24,65	35,17	14,85	24,19	2,385	0,279	<0,001	<0,001	0,747
Digestibilidade aparente total										
kg/dia	4,06	4,53	3,96	3,97	4,08	0,497	0,106	0,250	0,347	0,103
% do total ingerido	70,53	75,09	78,74	67,43	72,83	1,668	0,006	<0,001	<0,001	0,386

¹Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ²Dieta à base de milho moído seco; ³Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ⁴Dieta à base de sorgo moído seco; ⁵Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído; ⁶Erro padrão da média; ⁷Efeito do teor de concentrado na dieta, dado pelo contraste entre a dieta controle e a dieta a base de milho moído seco.; ⁸Peso corporal

A digestibilidade ruminal da MS e da MO, expressa em kg/dia e em porcentagem do total ingerido, foi influenciada ($P<0,05$) pelo teor de concentrado, sendo maiores valores observados quando se elevou o teor de concentrado da dieta. Não houve efeito ($P>0,05$) do tipo de grão utilizado sobre a digestibilidade ruminal da MS e da MO expressa tanto em kg/dia quanto em termos percentuais. Contudo, houve efeito ($P<0,05$) do processamento, sendo essa digestibilidade menor para as dietas contendo silagens de grãos reconstituídos.

Não foi observada diferença ($P>0,05$) entre os teores de concentrado para a digestibilidade intestinal da MS e da MO. Por outro lado, houve efeito ($P<0,05$) do tipo de grão e do processamento, sendo observada redução na digestibilidade intestinal da MS e da MO em dietas contendo grãos de sorgo em relação às contendo grãos de milho e também redução para as dietas contendo grãos secos em relação às contendo silagens de grãos reconstituídos.

O teor de concentrado, o tipo de processamento e o tipo de grão não influenciaram ($P>0,05$) a digestibilidade aparente total da MS e da MO, quando expressa em kg/dia. Por outro lado, houve efeito do teor de concentrado ($P<0,05$) para a digestibilidade aparente total, expressa em porcentagem, sendo observado maior valor quando se eleva o teor de concentrado da dieta. No mesmo sentido, houve efeito ($P<0,05$) do tipo de grão e também do processamento para a digestibilidade aparente total, expressa em termos percentuais, observando-se maiores digestões para as dietas contendo milho em relação às contendo sorgo e maiores valores para as dietas contendo silagens dos grãos reconstituídos em relação às contendo grãos secos.

Tabela 4 - Efeito de diferentes grãos e métodos de processamento no consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e aparente total da matéria orgânica em bovinos Nelore

Itens	Dietas					EPM ⁶	P – valor			
	CTL ¹	Milho		Sorgo			NC ⁷	Grão (G)	Processamento (P)	G × P
		MMS ²	SMR ³	SMS ⁴	SSR ⁵					
Consumo matéria orgânica										
kg/dia	5,33	5,69	4,68	5,38	5,25	0,618	0,374	0,633	0,058	0,136
Digestibilidade ruminal										
kg/dia	2,63	3,20	2,41	3,22	2,87	0,366	0,022	0,138	0,002	0,178
% do total ingerido	49,85	56,50	50,45	59,10	55,44	2,181	0,038	0,084	0,033	0,566
Digestibilidade intestinal										
kg/dia	1,25	1,15	1,38	0,68	1,02	0,150	0,538	0,002	0,023	0,632
% do total ingerido	22,94	20,22	30,34	9,99	18,88	2,028	0,226	<0,001	<0,001	0,689
Digestibilidade aparente total										
kg/dia	3,88	4,35	3,79	3,80	3,89	0,471	0,101	0,223	0,314	0,101
% do total ingerido	72,79	76,73	80,80	69,10	74,32	1,680	0,012	<0,001	<0,001	0,554

¹Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ²Dieta à base de milho moído seco; ³Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ⁴Dieta à base de sorgo moído seco; ⁵Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído; ⁶Erro padrão da média; ⁷Efeito do teor de concentrado na dieta, dado pelo contraste entre a dieta controle e a dieta a base de milho moído seco

Fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína

Na tabela 5 são apresentados os dados referentes ao consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e total da FDNcp.

O aumento no teor de concentrado na dieta reduziu ($P < 0,05$) o consumo de FDNcp. Houve efeito ($P < 0,05$) do processamento para o consumo de FDNcp, observando-se redução para as dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. Contudo, não foi observado efeito ($P > 0,05$) para os tipos de grãos.

Não houve efeito ($P > 0,05$) do nível de concentrado, bem como, do tipo de grão utilizado sobre a digestibilidade ruminal da FDNcp. Mas, o tipo de processamento influenciou ($P < 0,05$) a digestão ruminal, sendo essa menor para dietas contendo silagens de grãos reconstituídos. Não houve efeito ($P > 0,05$) dos fatores avaliados sobre a digestibilidade intestinal da FDNcp.

Houve tendência de interação entre tipo de grão e processamento ($P < 0,10$) para a digestibilidade total da FDNcp, expressa em kg/dia e em %.(Tabela 5).

Avaliando o comportamento dentro de cada tipo de grão, observa-se que para dietas contendo milho, houve efeito ($P < 0,05$) do processamento na quantidade total digerida da FDNcp, sendo essa menor, quando se forneceu a dieta à base de silagem de milho reconstituído. Contudo, para as dietas contendo sorgo, nenhum efeito foi observado ($P > 0,05$).

Analisando o efeito dentro de cada processamento, nota-se que, não houve diferenças ($P > 0,05$) quanto as digestibilidades totais da FDNcp independentemente do tipo de grão utilizado.

Tabela 5 - Efeito de diferentes grãos e métodos de processamento no consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e total da detergente neutro corrigido para cinzas e proteína bruta (FDNcp) em bovinos Nelore

Itens	Dietas					EPM ⁶	P – valor			G × P
	CTL ¹	Milho		Sorgo			NC ⁷	Grão (G)	Processamento (P)	
		MMS ²	SMR ³	SMS ⁴	SSR ⁵					
Consumo de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para proteína e cinzas										
kg/dia	1,65	1,36	1,06	1,27	1,18	0,135	0,019	0,848	0,023	0,196
Digestibilidade ruminal										
kg/dia	0,78	0,72	0,45	0,65	0,56	0,076	0,513	0,752	0,010	0,132
% do total ingerido	46,90	54,65	42,42	51,33	48,82	3,755	0,108	0,634	0,037	0,149
Digestibilidade intestinal										
kg/dia	0,22	0,14	0,13	0,12	0,14	0,036	0,550	0,880	0,821	0,549
% do total ingerido	12,98	9,49	12,41	9,40	11,45	2,204	0,196	0,775	0,193	0,814
Digestibilidade total										
kg/dia	0,99	0,86Aa	0,58Ba	0,77Aa	0,71Aa	0,087	0,149	0,815	0,012	0,085
% do total ingerido	59,88	64,15	54,83	60,72	60,27	2,532	0,200	0,657	0,048	0,069

¹Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ²Dieta à base de milho moído seco; ³Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ⁴Dieta à base de sorgo moído seco; ⁵Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído; ⁶Erro padrão da média; ⁷Efeito do teor de concentrado na dieta, dado pelo contraste entre a dieta controle e a dieta a base de milho moído seco; ^{ab}Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si

Proteína bruta

Conforme apresentado na Tabela 6, o consumo de proteína bruta não foi afetado ($P>0,05$) pelos fatores avaliados.

Não foi observado efeito ($P>0,05$) do teor de concentrado para digestibilidade ruminal e intestinal da proteína e para a digestibilidade aparente total expressa em kg/dia. Contudo, a digestibilidade total da proteína, expressa em porcentagem, foi menor ($P<0,05$) quando se reduziu o teor de concentrado na dieta.

Houve efeito ($P<0,05$) do tipo de grão e do processamento para a digestão ruminal, observando-se maior digestão para dietas contendo sorgo em relação às contendo milho e para dietas contendo grãos secos, em relação àquelas contendo silagens de grãos reconstituídos.

Efeito do tipo de grão e do processamento ($P<0,05$) foi observado para a digestão intestinal da PB, constatando-se menor digestão ($P<0,05$) para dietas contendo sorgo em relação às contendo milho e para dietas contendo grãos secos, em relação àquelas contendo silagens de grãos reconstituídos.

No que diz respeito à digestibilidade aparente total da PB, houve efeito ($P<0,05$) do tipo de grão utilizado e do método de processamento quando expressos em termos percentuais, sendo maiores valores observados dietas à base de milho e silagens de grãos reconstituídos. Todavia, a digestibilidade aparente total em kg/dia, foi igual ($P>0,05$) independente do tipo de grão ou processamento utilizado.

Tabela 6 – Efeito de diferentes grãos e métodos de processamento no consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e aparente total da proteína bruta em bovinos Nelore

Itens	Diets					EPM ⁶	P – valor			
	Milho			Sorgo			NC ⁷	Grão (G)	Processamento (P)	G × P
	CTL ¹	MMS ²	SMR ³	SMS ⁴	SSR ⁵					
Consumo proteína bruta										
kg/dia	0,74	0,81	0,68	0,80	0,79	0,084	0,272	0,217	0,120	0,175
Digestibilidade ruminal										
kg/dia	0,12	0,15	0,02	0,24	0,12	0,029	0,394	0,002	<0,001	0,838
% do total ingerido	16,87	18,36	1,78	28,90	16,28	3,423	0,755	0,002	<0,001	0,561
Digestibilidade intestinal										
kg/dia	0,42	0,46	0,52	0,34	0,47	0,054	0,341	0,020	0,012	0,274
% do total ingerido	54,75	57,11	77,82	42,69	58,23	3,848	0,608	<0,001	<0,001	0,429
Digestibilidade aparente total										
kg/dia	0,53	0,61	0,54	0,58	0,59	0,065	0,110	0,707	0,386	0,223
% do total ingerido	71,61	75,46	79,60	71,60	74,51	1,481	0,005	<0,001	0,001	0,463

¹Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ²Dieta à base de milho moído seco; ³Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ⁴Dieta à base de sorgo moído seco; ⁵Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído; ⁶Erro padrão da média; ⁷Efeito do teor de concentrado na dieta, dado pelo contraste entre a dieta controle e a dieta a base de milho moído seco

Amido

O menor teor de concentrado na dieta proporcionou menor ($P<0,05$) consumo de amido para dieta com menor inclusão de concentrado. Houve efeito ($P<0,05$) do processamento para o consumo de amido, sendo esse menor em dietas contendo silagens de grãos reconstituídos. Por outro lado, não houve influência ($P>0,05$) do tipo de grão, milho ou sorgo, no consumo de amido (Tabela 7).

O aumento no teor de concentrado proporcionou maior ($P<0,05$) digestibilidade ruminal do amido em kg/dia, em contrapartida, não foi observada diferença ($P>0,05$) para a digestão ruminal do amido expressa em porcentagem. Não houve efeito ($P>0,05$) do tipo de grão para a digestão ruminal do amido, expressa em kg/dia ou em porcentagem, bem como para o processamento, expresso em porcentagem. Contudo, observou-se efeito ($P<0,05$) do processamento para quantidade de amido digerido no rúmen, sendo essa menor para as dietas contendo silagens de grãos reconstituídos.

Não houve efeito ($P>0,05$) do teor de concentrado para digestão intestinal do amido. Porém, houve efeito ($P<0,05$) do tipo de grão e do processamento, sendo a digestão maior para dietas contendo milho em relação àquelas contendo sorgo e para as dietas contendo silagens de grãos reconstituídos em relação àquelas contendo os grãos secos.

O aumento no teor de concentrado elevou ($P<0,05$) a digestão total do amido, em kg/dia, mas não alterou ($P>0,05$) o percentual digerido. Houve efeito ($P<0,05$), do tipo de grão e do processamento para a digestão total do amido expressa em porcentagem, sendo maior para dietas contendo milho em relação às contendo sorgo e para as dietas contendo silagens de grãos reconstituídos em relação às contendo grãos secos. Quando essa digestão total foi expressa em kg/dia, foi verificado efeito ($P<0,05$) apenas do tipo de grão, sendo maiores valores observados para as dietas contendo milho (Tabela 7).

Tabela 7 - Efeito de diferentes grãos e métodos de processamento no consumo, digestibilidade ruminal, intestinal e total do amido em bovinos Nelore

Itens	Dietas					EPM ⁶	P – valor			
	CTL ¹	Milho		Sorgo			NC ⁷	Grão (G)	Processamento (P)	G × P
		MMS ²	SMR ³	SMS ⁴	SSR ⁵					
Consumo de amido										
kg/dia	2,57	3,18	2,55	2,80	2,67	0,362	0,015	0,400	0,028	0,131
Digestibilidade ruminal										
kg/dia	2,05	2,64	2,03	2,24	2,11	0,309	0,007	0,285	0,012	0,128
% do total ingerido	79,96	82,94	77,13	78,97	80,32	2,817	0,454	0,888	0,429	0,213
Digestibilidade intestinal										
kg/dia	0,39	0,29	0,49	0,08	0,26	0,076	0,233	0,007	0,014	0,797
% do total ingerido	14,45	8,89	21,52	2,70	8,90	2,58	0,169	0,002	0,002	0,207
Digestibilidade total										
kg/dia	2,43	2,93	2,52	2,32	2,37	0,382	0,019	0,013	0,195	0,102
% do total ingerido	94,42	91,83	98,65	81,66	89,23	1,184	0,121	<0,001	<0,001	0,739

¹Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ²Dieta à base de milho moído seco; ³Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ⁴Dieta à base de sorgo moído seco; ⁵Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído; ⁶Erro padrão da média; ⁷Efeito do teor de concentrado na dieta, dado pelo contraste entre a dieta controle e a dieta a base de milho moído seco. ⁸Matéria seca

pH ruminal

Nas Figuras 1 a 5 é possível observar o comportamento do pH ruminal ao longo do dia em cada tipo de dieta. Nelas foram plotados o pH médio dos cinco dias de avaliação de cada animal, em cada horário e a curva de tendência do pH de todos animais avaliados. Nota-se que, no geral, com exceção da dieta à base de silagem de milho reconstituído, os valores de pH ao longo do dia variaram pouco, oscilando entre 5,8 e 6,8. Já para a dieta à base de silagem de milho reconstituído, é possível notar uma predominância de valores.

Na Tabela 8 são demonstradas as áreas ($\Delta pH \times H$) e o tempo em minutos por dia no qual as dietas permanecem acima ou abaixo dos patamares preestabelecidos. Corroborando com os dados obtidos na análise gráfica de pH para cada dieta (Figuras 1 a 5), observa-se que animais alimentados com dieta à base de silagem de milho reconstituído permaneceram 555 min/dia com pH ruminal abaixo de 5,8. Em contrapartida as demais dietas possibilitaram que o pH ruminal permaneça todo ou dia ou grande parte do dia acima de 5,8. A representação gráfica dos dados contidos na Tabela 8 podem ser observados na Figura 6

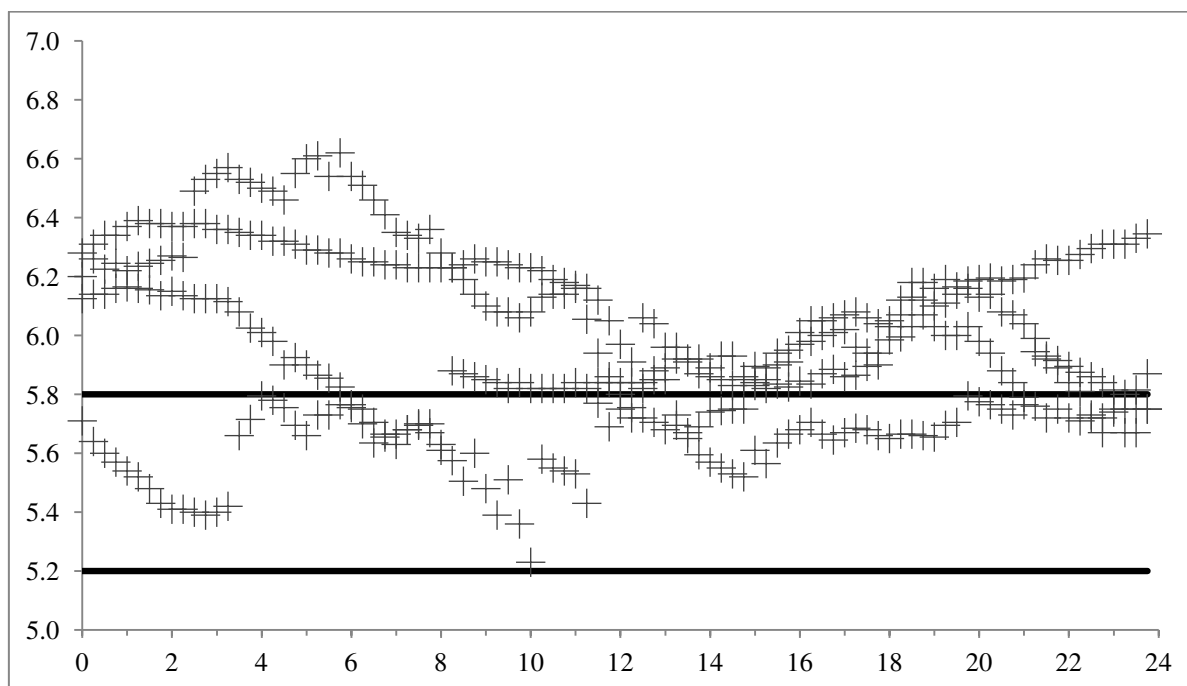


Figura 1 – Comportamento do pH ruminal ao longo do dia em bovinos Nelore recebendo dieta à base de milho moído seco.

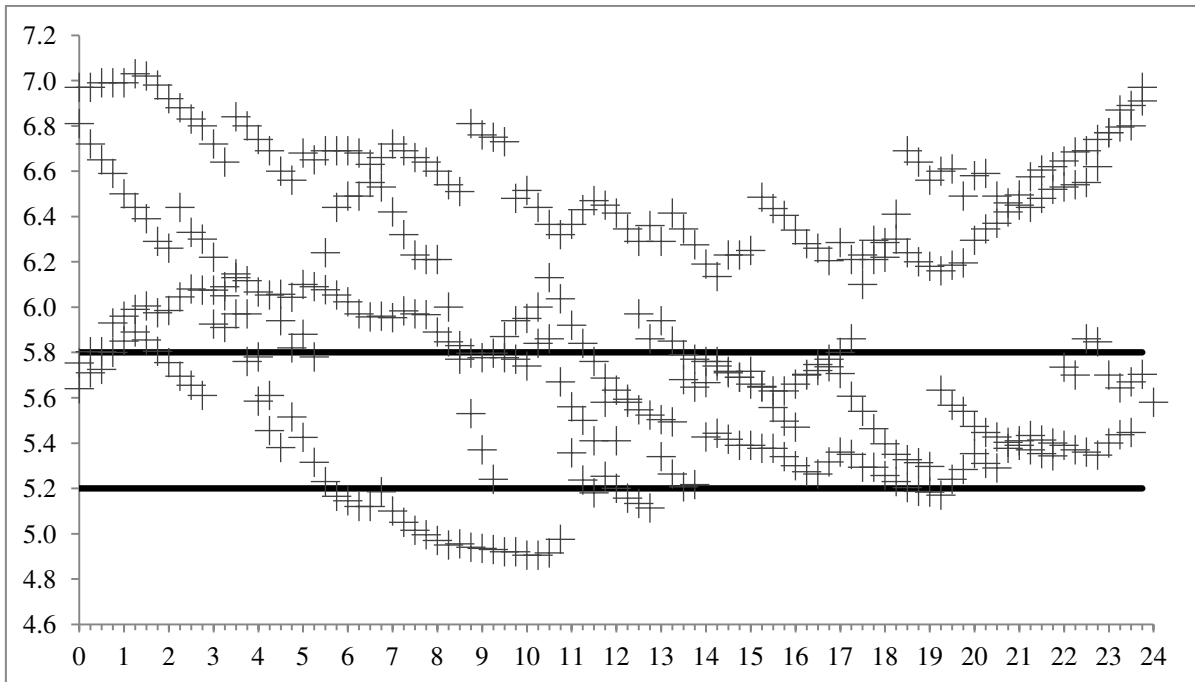


Figura 2 – Comportamento do pH ruminal ao longo do dia em bovinos Nelore recebendo dieta à base de silagem de milho reconstituído.

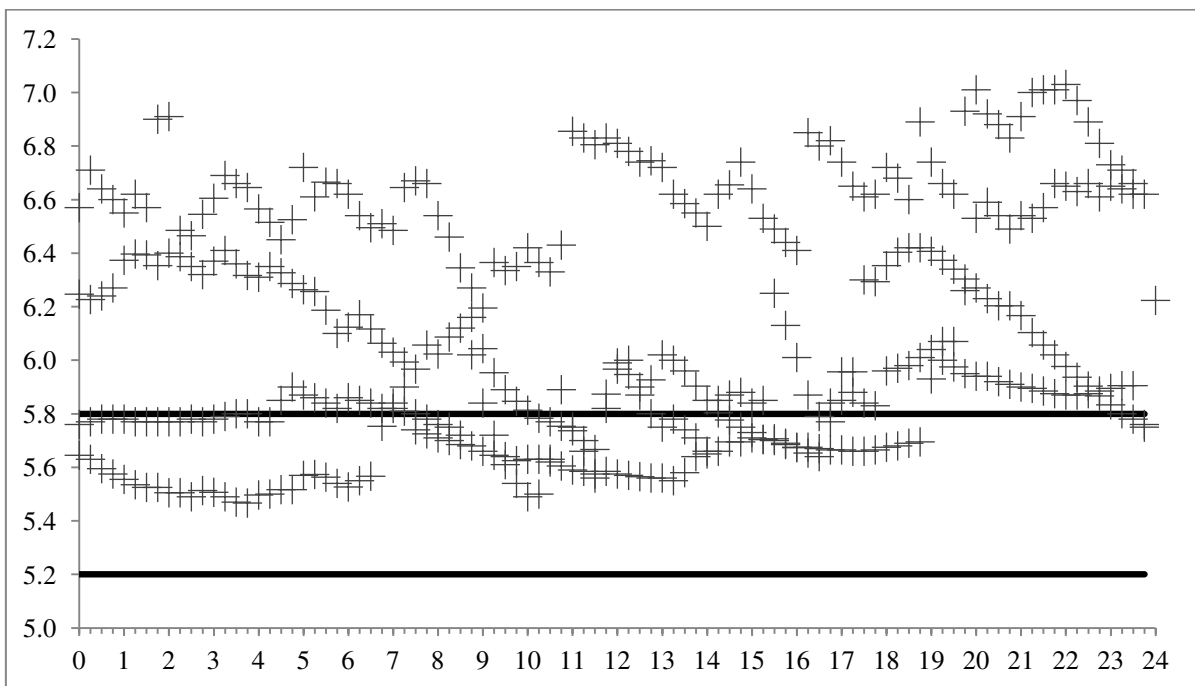


Figura 3 – Comportamento do pH ruminal ao longo do dia em bovinos Nelore recebendo dieta à base de sorgo moído seco.

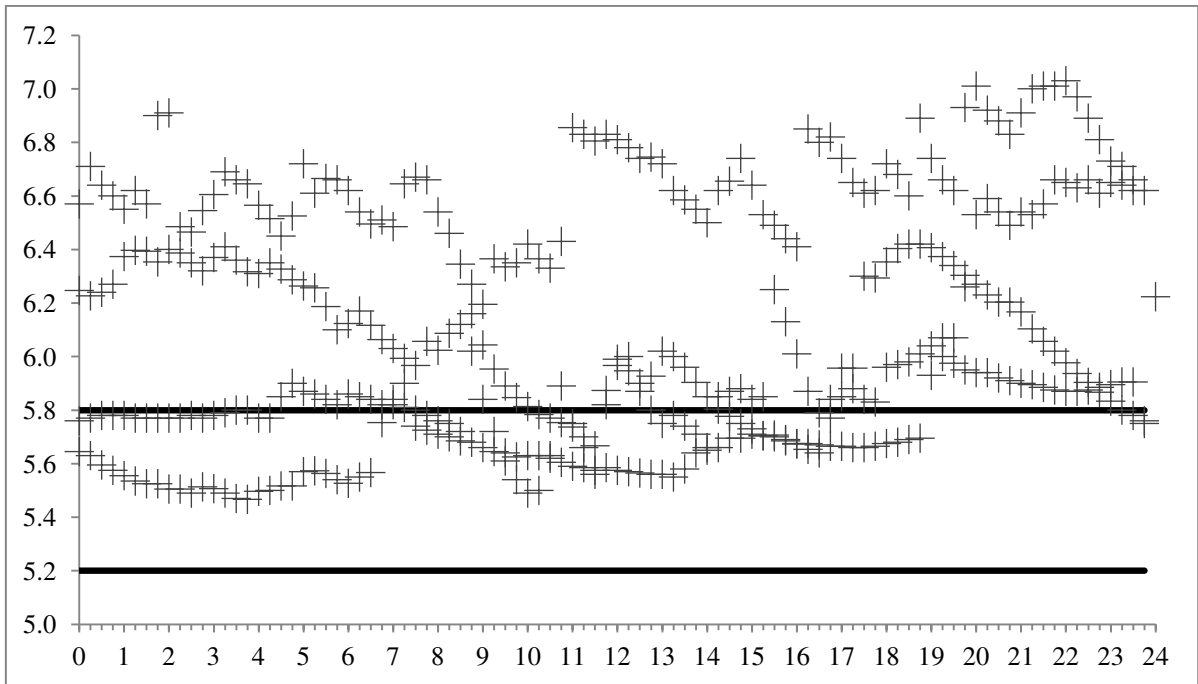


Figura 4 – Comportamento do pH ruminal ao longo do dia em bovinos Nelore recebendo dieta à base de silagem de sorgo reconstituído.

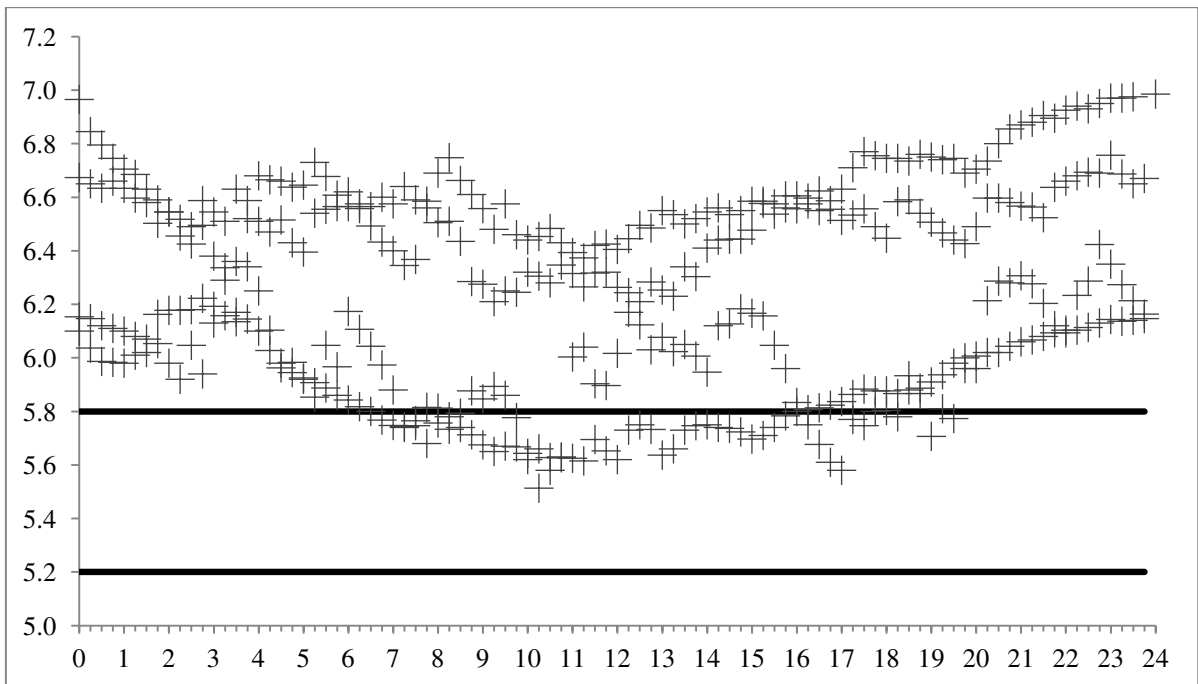


Figura 5 – Comportamento do pH ruminal ao longo do dia em bovinos Nelore recebendo dieta controle.

Tabela 8 - Efeito de diferentes grãos e métodos de processamento na variação do pH ruminal de bovinos Nelore

Itens	Dietas				
	CTL ¹	Milho		Sorgo	
		MMS ²	SMR ³	SMS ⁴	SSR ⁵
	<i>Δ pH x H</i>				
Abaixo de 5,2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Abaixo de 5,8	0,00	0,05	0,49	0,00	0,00
Acima de 5,8	10,85	3,88	3,90	6,87	9,08
	<i>Tempo (minutos/dia)</i>				
Abaixo de 5,2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Abaixo de 5,8	0,00	105,00	555,00	0,00	0,00
Acima de 5,8	1440,00	1335,00	885,00	1440,00	1440,00

¹Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ²Dieta à base de milho moído seco; ³Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ⁴Dieta à base de sorgo moído seco; ⁵Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído

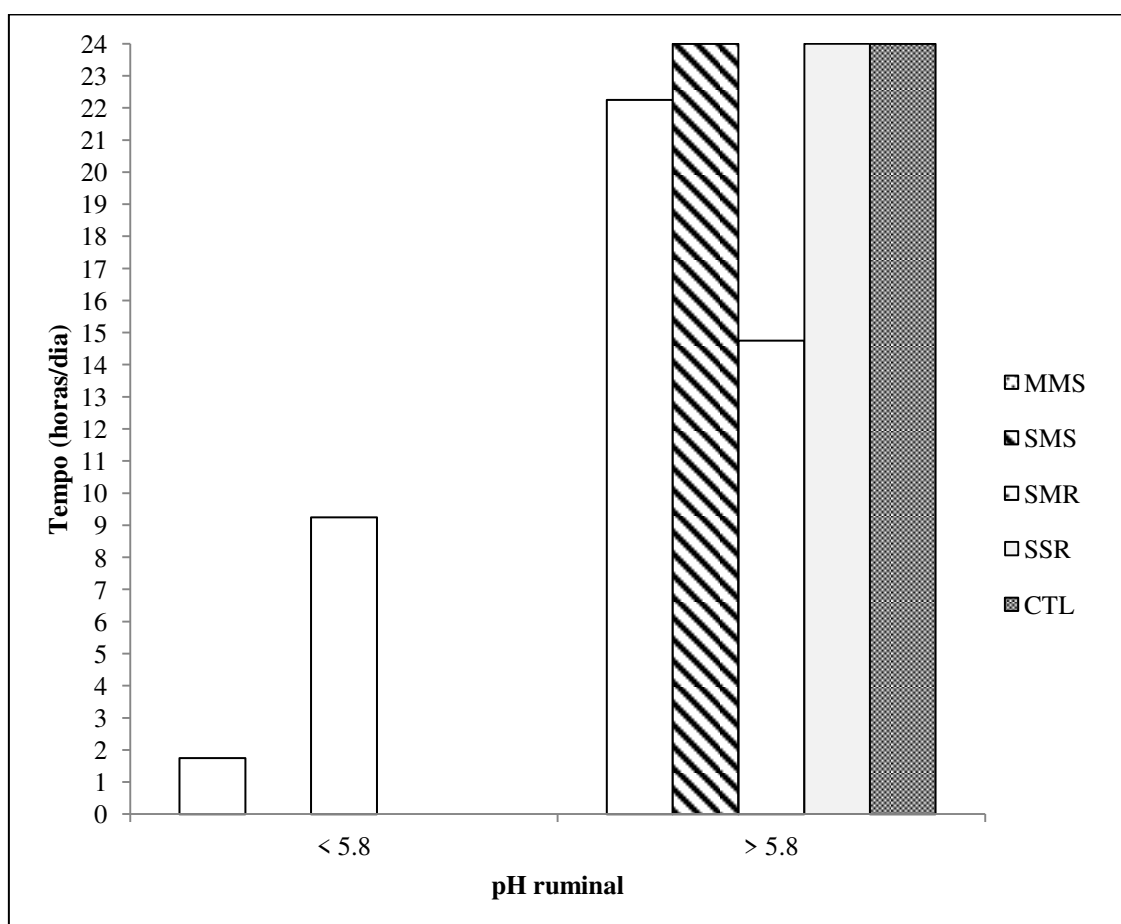


Figura 6 – Tempo diário de pH ruminal em bovinos Nelore alimentados com dietas à base de milho e sorgo com diferentes processamentos. MMS = dieta à base de milho moído seco; SMS = dieta à base de sorgo moído seco; SMR = dieta à base de silagem de milho reconstituído; SSR = dieta à base de silagem de sorgo reconstituído; CTL = dieta controle

Frações dos compostos nitrogenados

Na Tabela 9 são apresentados os dados referentes às frações dos compostos nitrogenados para os grãos de milho e sorgo em diferentes tempos de ensilagem.

Houve interação ($P < 0,05$) entre o tempo de ensilagem e tipo de grão para todas as frações avaliadas.

As concentrações de nitrogênio proteico solúvel são variáveis ao longo do tempo de ensilagem para grãos de milho reconstituídos e não é afetada em grãos de sorgo reconstituídos. Quando se compara o tipo de grão, observa-se que até 14 dias de ensilagem grãos de milho reconstituídos apresentam maiores teores de nitrogênio proteico solúvel em relação ao sorgo, porém, após 28 dias de ensilagem essa concentração se iguala para ambos os grãos.

De maneira geral, nota-se a redução nos teores de nitrogênio proteico insolúvel e da fração não proteica para ambos os grãos avaliados ao longo do tempo de ensilagem. Observa-se ainda que, grãos de milho reconstituídos apresentam menores de nitrogênio proteico insolúvel e maiores teores de nitrogênio não proteico em todos os tempos de ensilagem avaliados quando comparados aos grãos de sorgo reconstituídos.

Com relação às concentrações de nitrogênio insolúvel em detergente neutro, grãos de milho reconstituídos apresentam menores variações, sendo estabilizada após 7 dias de ensilagem. Já para os grãos de sorgo reconstituídos, a fração insolúvel em detergente neutro é mais instável, porém, de maneira geral é reduzida ao longo do tempo de ensilagem, passando de 16% para aproximadamente 3% ao final de 360 dias. Comparando os grãos em cada tempo de ensilagem, observa-se que grãos de milho apresentam menores teores de nitrogênio insolúvel em detergente neutro em todos os tempos de ensilagem (Tabela 9; Figura 7).

Tabela 9 – Efeito do tempo de ensilagem sobre as frações dos compostos nitrogenados nos grãos de milho e sorgo

Grão	Tempo de ensilagem (dias)										EPM	P-valor		
	0	7	14	28	45	60	90	120	180	360		Grão (G)	Tempo (T)	G × T
Nitrogênio proteico solúvel														
Milho	15,2 ^{Aa}	10,2 ^{Aab}	7,64 ^{Abc}	5,83 ^{Abe}	5,82 ^{Abf}	5,37 ^{Abg}	4,48 ^{Acdefg}	4,04 ^{Acdefg}	4,89 ^{Acdefg}	6,31 ^{Abd}	0,90	0,001	<0,001	<0,001
Sorgo	5,85 ^{Ba}	5,20 ^{Ba}	3,80 ^{Ba}	6,03 ^{Aa}	7,42 ^{Aa}	6,61 ^{Aa}	5,41 ^{Aa}	3,51 ^{Aa}	4,75 ^{Aa}	5,45 ^{Aa}				
Nitrogênio não proteico														
Milho	12,1 ^{Af}	27,2 ^{Ae}	36,7 ^{Ad}	39,3 ^{Ad}	44,3 ^{Ac}	48,5 ^{Abc}	53,2 ^{Ab}	63,9 ^{Aa}	65,7 ^{Aa}	65,4 ^{Aa}	1,35	<0,001	<0,001	<0,001
Sorgo	4,47 ^{Be}	17,6 ^{Bd}	20,0 ^{Bcd}	21,5 ^{Bcd}	22,6 ^{Bcd}	26,0 ^{Bc}	27,1 ^{Bc}	36,8 ^{Bb}	43,1 ^{Bb}	57,0 ^{Ba}				
Nitrogênio proteico insolúvel														
Milho	67,7 ^{Ba}	61,4 ^{Bab}	54,3 ^{Bbc}	53,8 ^{Bbc}	49,2 ^{Bcd}	45,9 ^{Bd}	42,1 ^{Bd}	31,8 ^{Be}	29,1 ^{Be}	27,9 ^{Be}	1,32	<0,001	<0,001	<0,001
Sorgo	73,6 ^{Aa}	69,7 ^{Aab}	70,1 ^{Aab}	66,8 ^{Aab}	65,0 ^{Ab}	64,3 ^{Abc}	64,0 ^{Abc}	56,7 ^{Ac}	48,8 ^{Ad}	34,7 ^{Ae}				
Nitrogênio insolúvel em detergente neutro														
Milho	5,14 ^{Ba}	1,21 ^{Bb}	1,31 ^{Bb}	1,09 ^{Bb}	0,73 ^{Bb}	0,29 ^{Bb}	0,27 ^{Bb}	0,29 ^{Bb}	0,32 ^{Bb}	0,34 ^{Bb}	0,38	<0,001	<0,001	<0,001
Sorgo	16,1 ^{Aa}	7,46 ^{Ab}	6,08 ^{Abc}	5,66 ^{Abcd}	4,91 ^{Ace}	3,08 ^{Ae}	3,53 ^{Ade}	2,93 ^{Ae}	3,36 ^{Ade}	3,19 ^{Ade}				

EPM = Erro padrão da média; Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si para tipo de grão; Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si para tempo de ensilagem

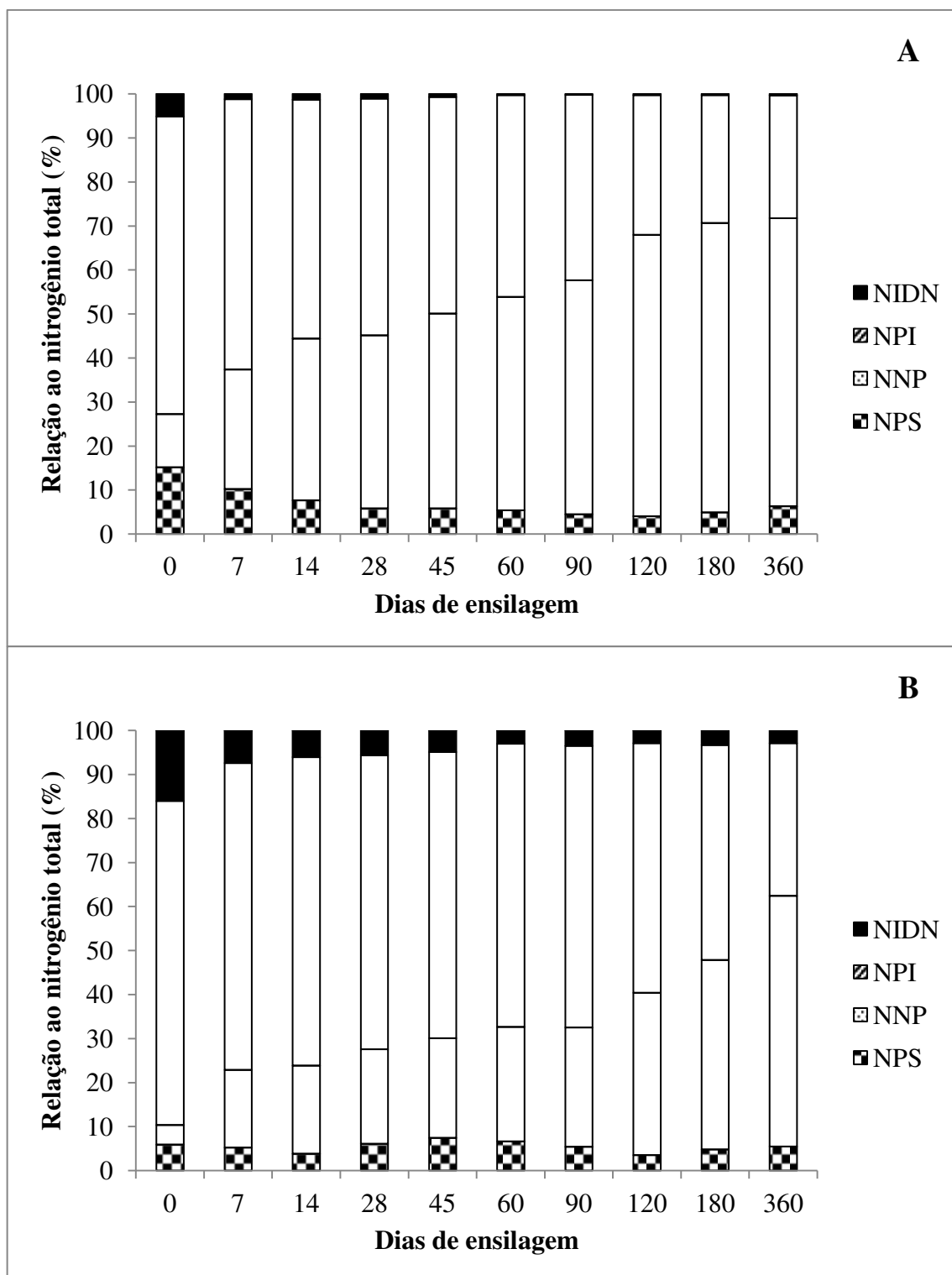


Figura 7 – Efeito do tempo de ensilagem dos grãos de milho e sorgo reconstituídos sobre o nitrogênio proteico insolúvel (NPS), nitrogênio não proteico (NNP), nitrogênio proteico insolúvel (NPI) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN)

Eficiência Microbiana

Na Tabela 10 são apresentados dados referentes ao consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT), de matéria orgânica digestível (CMOD) e a eficiência microbiana.

Não foi observado efeito ($P>0,05$) para CNDT, CMOD e na produção de proteína bruta microbiana para os fatores estudados.

Houve tendência ($P<0,10$) de aumento da eficiência microbiana, tanto expressa em relação ao CNDT quanto CMOD, para animais alimentados com dietas à base de silagem de grãos reconstituídos quando comparadas às dietas à base de grãos secos.

O maior teor de concentrado na dieta promoveu aumento ($P<0,05$) da eficiência microbiana quando expressa em relação à proteína bruta ingerida. Efeito similar foi verificado para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos em relação aos grãos secos e dietas à base de milho em relação a dietas à base de sorgo.

Tabela 10 - Efeito de diferentes grãos e métodos de processamento no consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) e matéria orgânica digestível (MOD) e eficiência microbiana obtida através de derivados de bases purinas

Itens	Dietas					EPM ⁶	P – valor			
	CTL ¹	Milho		Sorgo			NC ⁷	Grão (G)	Processamento (P)	G × P
		MMS ²	SMR ³	SMS ⁴	SSR ⁵					
Consumo (kg/dia)										
NDT	4,17	4,44	4,12	3,92	4,07	0,49	0,378	0,186	0,705	0,286
MOD	3,88	4,15	3,89	3,75	3,89	0,47	0,386	0,357	0,793	0,357
Eficiência microbiana										
gPBmic ⁸ /dia	439,88	493,97	522,67	438,37	459,94	59,26	0,449	0,2307	0,607	0,939
gPBmic/kgNDT	110,58	112,28	128,62	110,21	119,76	5,75	0,832	0,346	0,052	0,551
gPBmic/kgMOD	117,24	120,4	136,41	115,23	125,44	6,19	0,719	0,213	0,066	0,638
gPBmic/kgPBing ⁹	497,23	701,46	780,57	473,31	619,53	59,19	0,004	<0,001	0,018	0,431

¹Dieta controle à base de milho moído seco com relação volumoso:concentrado de 45:55; ²Dieta à base de milho moído seco; ³Dieta à base de silagem de milho reconstituído; ⁴Dieta à base de sorgo moído seco; ⁵Dieta à base de silagem de sorgo reconstituído; ⁶Erro padrão da média; ⁷Efeito do teor de concentrado na dieta, dado pelo contraste entre a dieta controle e a dieta a base de milho moído seco; ⁸Proteína bruta microbiana; ⁹Proteína bruta ingerida

Glicose sanguínea e Ácidos graxos voláteis no fluido ruminal

Na Tabela 11 são apresentadas as concentração de glicose sanguínea e as proporções molares totais e individuais de ácido graxos voláteis.

Não houve efeito ($P>0,05$) do teor de concentrado para a concentração de glicose.

Houve tendência ($P<0,10$) de aumento da glicose circulante para tipo de grãos, onde maiores valores foram observados para as dietas à base de milho quando comparadas as dietas à base de sorgo. Foi verificado também, aumento ($P<0,05$) nos níveis de glicose para as dietas à base de grãos reconstituídos quando comparadas às dietas contendo grãos secos.

Observa-se redução ($P<0,05$) nas concentrações de acetato e na relação acetato:propionato, além de, aumento ($P<0,05$) nas concentrações de propionato com a elevação do teor de concentrado da dieta.

Não houve diferença ($P>0,05$) na concentração de propionato no rúmen para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos. Porém, aumento ($P<0,05$) nas concentrações de propionato e de AGV total, além de redução ($P<0,05$) nas concentrações de acetato e na relação acetato:propionato foram constatados para as dietas contendo milho em relação àquelas contendo grão de sorgo.

DISCUSSÃO

A complexidade do controle do consumo alimentar pode ser explicada pela existência de uma série de mecanismos relevantes para evitar o excesso de ingestão de nutrientes pelo animal (Allen, 2014). O fígado provavelmente seria um importante sensor em ruminantes por ser um órgão anabólico chave, com a vantagem de detectar e possivelmente controlar o fornecimento de energia de acordo com a sua demanda (Allen e Bradford, 2012). Além disso, possui um mecanismo integrado para o controle do consumo de alimento, através da oxidação de uma enorme gama de nutrientes (Friedman e Tordoff, 1986). A velocidade de absorção, mobilização e metabolismo dos nutrientes afetam o consumo alimentar, alterando o tamanho e frequência das refeições em ruminantes (Allen et al., 2009).

A glicose é um metabólito importante no controle do consumo. A produção de glicose pelo fígado e sua liberação no sangue é afetada pela demanda deste nutriente nos tecidos. A remoção da glicose do sangue provavelmente estimularia o consumo, uma vez que, haveria redução de sua disponibilidade para a oxidação no fígado (Allen, 2014). Possivelmente, os níveis mais elevados de glicose sérica, observados para dietas à base de grãos reconstituídos (Tabela 11) possam ser um dos fatores responsáveis pela redução do consumo nesse tipo de dietas.

A redução no consumo de FDNcp e amido para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos em relação as dietas à base de grãos secos pode estar relacionada à redução no consumo de MO, uma vez que, não se observam diferenças quanto aos teores de FDNcp e amido para as dietas em questão (Tabela 2).

Dietas à base de silagem de grãos reconstituídos apresentaram redução da digestibilidade ruminal da FDNcp quando comparadas as dietas à base aos grãos secos (Tabela 5). Essa redução pode estar relacionada à redução no consumo de FDNcp, porém, observa-se também redução da digestibilidade em termos percentuais, indicando que pode

haver efeito da variação no pH ruminal ao longo do dia para as dietas em questão (Tabela 8). Animais alimentados com dieta à base de silagem de milho reconstituído permaneceram mais de 9 horas por dia com pH ruminal abaixo de 5,8, indicando acidose subaguda (Krause et al., 2006; Plaizier et al., 2008), podendo ter reduzido a digestão ruminal da fibra e influenciado o efeito de processamento no presente trabalho.

No presente estudo, a redução no consumo de FDNcp e aumento do consumo de amido quando se eleva o teor de concentrado na dieta pode estar relacionado com a própria composição destas dietas. O aumento nos teores de concentrado na dieta propicia redução no teor de FDNcp e aumento nas concentrações de amido da dieta quando comparada àquela com maior teor de forragem). Além disso, o consumo mais elevado de amido para dietas com maior teor de concentrado justificaria ainda o aumento na digestão ruminal e na digestão total deste componente, uma vez que, não foi observada diferença para estas digestões quando expressas em porcentagem (Tabela 7).

O aumento na digestibilidade ruminal da MS e MO para dieta com maior nível de concentrado pode estar relacionado com a maior quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis no rúmen, proporcionado pela substituição de forragem por concentrado. Segundo Ítavo et al. (2002), o aumento nos teores de concentrado na dieta promovem aumento linear na digestibilidade ruminal da MS e MO.

Os dados de digestibilidade ruminal e intestinal da MO para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos, sugerem uma alteração do local de digestão dos componentes da MO do rúmen para o intestino em relação as dietas à base de grãos secos. A gravidade funcional específica (GFE) influencia a dinâmica das partículas em ruminantes, sendo associada às contribuições de gases e fluidos presentes nos espaços inter e intracelulares dos alimentos (Dijkstra et al., 2005). O aumento da densidade devido à redução dos gases presentes nestas partículas aumenta a passagem da digesta no retículo-rúmen (Allen, 1996). Apesar de

comumente associada ao tamanho de partícula, a hidratação do alimento possivelmente influencia a GEF. O processo de hidratação das partículas em dietas à base de silagem de grãos reconstituídos faz com que os espaços antes repletos de gases nos grãos sejam preenchidos por água, aumentando a GEF, reduzindo assim o tempo de retenção ruminal.

A mudança no local de digestão dos nutrientes é tida como importante fator para determinar a forma e a velocidade de absorção dos metabólitos (Allen, 2014), podendo influenciar no desempenho dos animais. Por exemplo, estudos de diversos autores (Owens et al., 1986; Harmon e McLeod, 2001) relataram maior eficiência no uso de energia quando o amido é mais digerido no intestino em relação à digestão ruminal.

Aumento nas digestibilidades aparentes totais da MS e MO para dietas à base de silagem de grãos reconstituídos são relatados na literatura (Jobim et al., 2003; Benton et al., 2009; Bitencourt et al., 2009). No presente trabalho, a redução do consumo de MS e MO não afeta a quantidade digerida, logo, provavelmente não haveria problemas relacionados ao fornecimento de nutrientes ao animal.

A menor digestão ruminal da PB para dietas à base de grãos reconstituídos e dietas à base de grãos de milho possivelmente está relacionada à sua maior eficiência de utilização, uma vez que, a redução no desaparecimento ruminal da proteína pode ser consequência da maior transformação de PB dietética em PB microbiana (Tabela 10). Além disso, como cerca de 60,83% da dieta foi composta pelo grão, milho ou sorgo, a redução na digestibilidade intestinal da PB para dietas à base de grãos de sorgo pode indicar uma maior resistência das proteínas do sorgo (kafirinas) a ataque enzimático no lúmen do intestino.

Por apresentarem a matriz proteica muito resistente (Rooney e Pflugfelder, 1986), mesmo quando triturados ou parcialmente quebrados, os grânulos de amido do milho e sorgo podem apresentar resistência à digestão enzimática no intestino delgado (Jobim e Reis 2001). Além disso, a adesão entre o amido do endosperma e a proteína é mais forte no sorgo que no

milho e pode influenciar a digestibilidade destes nutrientes (Rooney e Pflugfelder 1986). Porém, os processos químicos e biológicos envolvidos no processo de reconstituição e ensilagem podem ocasionar a quebra da matriz proteica que recobre os grânulos de amido, ou até mesmo da própria estrutura desses grânulos, aumentando assim a área exposta à ação enzimática dos microrganismos e dos animais, conseqüentemente, a eficiência de utilização do amido e PB seria aumentada (Hoffman e Shaver, 2011).

Possivelmente, as diferenças nas frações protéicas dos grãos e/ou a própria modificação destas frações (Tabela 9), ocasionadas pelo processo de reconstituição e ensilagem, sejam responsáveis pelo aumento na digestibilidade intestinal do amido e da PB para o tipo de processamento e tipo de grãos no presente estudo. Corroborando com o presente estudo, Oba e Allen (2003b) verificaram aumento na digestibilidade da PB quando os grãos foram submetidos ao processo de ensilagem.

Corroborando com os resultados obtidos para MO, observa-se uma redução na digestibilidade ruminal e aumento da digestibilidade intestinal dos principais componentes das dietas à base de grãos reconstituídos em relação aos grãos secos.

O aumento da digestibilidade intestinal da PB para dietas à base de grãos reconstituídos parece ser mais eficiente, uma vez que, mesmo apresentando um desaparecimento ruminal baixo, a quantidade total digerida não foi afetada. O mesmo pode ser estendido ao amido, uma vez que, a redução no consumo e na digestibilidade ruminal deste componente da dieta não influenciou a digestibilidade total.

CONCLUSÃO

O processo de reconstituição e ensilagem dos grãos reduz a fração insolúvel da proteína e aumenta a digestão pós ruminal do amido. Além disso, proporciona aumento da eficiência microbiana, redução da ingestão e alteração dos locais de digestão dos principais componentes das dietas.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. S. Drives and limits to feed intake in ruminants. *Animal Production Science*, v. 54, n. 10, p. 1513-1524, 2014.
- ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J. Control of food intake by metabolism of fuels: a comparison across species. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 71, n. 3, p. 401-409, 2012.
- ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J., OBA, M. Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of animal science*, v. 87, n. 10, p. 3317-3334, 2009.
- ARCARI, M. A. Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reconstituído e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso. 2014. 98f. Dissertação Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, Pirassununga, Brasil. 2013.
- BARBOSA, A. M., VALADARES, R. F. D., VALADARES FILHO, S. C. et al. 2011. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. *J. Anim. Sci.* v.89, p.510-519.
- 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 Cattle Report*. 2005.
- BERCHIELLI, T. T., RODRIGUEZ, N. M., DE ANDRADE, P. Concentração, proporção molar e taxa de produção de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen de bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*, p. 511-521, 1996.
- BITENCOURT, L. L., SIÉCOLA JÚNIOR, S., MELO, L. Q., LOPES, , N. M., SILVEIRA, V. A., RIOS, I. R., SILVA, J, R. M., PEREIRA, R. A. N., PEREIRA, M. N.

- Performance of dairy cows fed extruded or hydrated and ensiled mature corn grain. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.92, p.96-97, 2009 (E-Suppl.1).
- CAETANO, M., GOULART, R. S., SILVA, S. L., DROUILLARD, J. S., LEME, P. R., LANNA, D. P. D. Effect of flint corn processing method and roughage level on finishing performance of Nellore-based cattle. *Journal of animal science*, v. 93, n. 8, p. 4023-4033, 2015.
- DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 62, p. 980–984. 2010
- DETMANN, E., CECON, P. R., PAULINO, M. F., VALADARES FILHO, S. D. C., HENRIQUES, L. T., DETMANN, K. D. S. C. Variáveis ruminais avaliadas por meio de funções matemáticas contínuas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42:1651-1657, 2007.
- DETMANN, E., SOUZA, M. A., VALADARES FILHO, S. C., QUEIROZ, A.C., BERCHIELLI, T. T., SALIBA, E. O. S., CABRAL, L. S., PINA, D. S., LADEIRA, M. M., AZEVEDO, J. A. G. (Eds.) *Métodos para análise de alimentos*. Visconde do Rio Branco: Suprema, 214 p., 2012.
- FAICHNEY, G. J. The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. In: *DIGESTION AND METABOLISM IN THE RUMINANT. PROC. IV INTERNATIONAL SYMPOSIUM RUMINANT PHYSIOLOGY*. Sydney, Australia. p. 277–291. 1975.
- FRANCE, J., R. C. SIDDON. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. *Journal of Theoriogenoly Biology*, v. 121, p. 105–120. 1986.

- FRIEDMAN, M. I., TORDOFF, M. G. Fatty acid oxidation and glucose utilization interact to control food intake in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 251, n. 5, p. R840-R845, 1986.
- 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. E-Suppl, p. E59-E72, 2001.
- HOFFMAN, P. C., SHAVER, R. D. The nutritional chemistry of dry and high moisture corn. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE. University of Wisconsin-Madison, Department of Dairy Science, The University of Arizona, Department of Animal Sciences. p. 12- 23, 2011.
- HOOVER, W. H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion¹. *Journal of Dairy Science*, v. 69, n. 10, p. 2755-2766, 1986.
- HUHTANEN, P., BROTZ, P. G., SATTER, L. D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. *Journal of Animal Science*, v. 75, p. 1380–1392. 1997.
- ÍTAVO, L. C. V., VALADARES FILHO, S. D. C. U., SILVA, F. F. D. U., VALADARES, R. F. D. U., LEÃO, M. I. U., CECON, P. R. U., PAULINO, P. V. R. U. Consumo e Digestibilidades Aparentes Totais e Parciais de Nutrientes em Novilhos Alimentados com Dietas Contendo Vários Níveis de Concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2002.
- JOBIM, C. C., REIS, R. A. Produção e utilização de silagem de grãos úmidos de milho. Workshop sobre silagem. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.912-927, 2001.

- JOBIM, C.C., BRANCO, A. B., SANTOS, G. T. Silagem de grãos úmidos na Alimentação de bovinos leiteiros. Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos leiteiros. Simpósio Goiano sobre Manejo e Nutrição de Bovinos de Corte e Leite, v. 5, p. 357-376, 2003.
- KRAUSE, K. M., OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 126:215-236, 2006.
- LEÃO, M. I. Metodologias de coletas de digesta omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: Consumo, digestibilidade e produção microbiana. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil. 2002.
- LICITRA, G., T. M. HERNANDEZ, P. J. VAN SOEST. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. v. 57, p. 347–358. 1996.
- MACHADO, M.G., DETMANN, E., MANTOVANI, H.C., VALADARES FILHO, S.C., BENTO, C.B.P., MARCONDES, M.I., ASSUNÇÃO, A.S. Evaluation of the length of adaptation period for changeover and crossover nutritional experiments with cattle fed tropical forage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 222:132-148. 2016.
- MILLEN, D. D., PACHECO, R. D. L., ARRIGONI, M. D. B., GALYEAN, M. L., VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. *Journal of Animal Science*, 87:3427-3439, 2009. Millen, D. D.,
- MOTA, M. F., VILELA, D., SANTOS, G. T., ELYAS, A. C. W., LOPES, F. C. F., VERNEQUE, R. S., PAIVA, P. C. A., PINTO NETO, A. P. Parâmetros ruminiais de vacas leiteiras mantidas em pastagem tropical. *Archivos de Zootecnia*, 59 (226): 217- 224, 2010.

- 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, n. 1, p. 174-183, 2003b.
- OWENS, F., ZINN, R. A., & KIM, Y. K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of Animal Science*, v. 63, n. 5, p. 1634-1648, 1986.
- PACHECO, R. D. L., DILORENZO, N., MARTINS, C. L., MARINO, C. T., BASTOS, J. P. S. T., MARIANI, T. M., BARDUCCI, R. S., SARTI, L. M. N., DICOSTANZO, A., RODRIGUES, P. H. M., ARRIGONI, M. D. B. Effects of feeding a spray-dried multivalent polyclonal antibody preparation on feedlot performance, feeding behavior, carcass characteristics, rumenitis, and blood gas profile of Brangus and Nelore yearling bulls. *Journal of animal science*, 93:4387-4400, 2015.
- PACHECO, R. D. L., MILLEN, D. D., DILORENZO, N., MARTINS, C. L., MARINO, C. T., FOSSA, M. V., BEIER, S. L., DICONSTANZO, A., RODRIGUES, P. H. M., ARRIGONI, M. D. B. Effects of feeding a multivalent polyclonal antibody preparation on feedlot performance, carcass characteristics, rumenitis, and blood gas profile in *Bos indicus* biotype yearling bulls. *Journal of animal science*, 90:1898-1909, 2012.
- PENNER, G. B., BEAUCHEMIN, K. A., MUTSVANGWA, T. An evaluation of the accuracy and precision of a stand-alone submersible continuous ruminal pH measurement system. *Journal of Dairy Science*, 89:2132-2140, 2006.
- PEREIRA, M. L. R. Degradabilidade ruminal in vitro de grão reconstituído e ensilado de milho e sorgo com diferentes granulometrias. 2012.
- PINTO, A. C. J., MILLEN, D. D. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: X Simpósio Internacional de Produção de Bovinos de Corte, Viçosa. Anais... Viçosa: DZO-UFV, 103-120, 2016.

- PLAIZIER, J. C., KRAUSE, D. O., GOZHO, G. N., MCBRIDE, B. W. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal*, 176:21-31, 2008.
- 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.
- ROTTA, P. P., VALADARES FILHO, S. C., DETMANN, E., COSTA E SILVA, L. F., PAULINO, M. F., MARCONDES, M. I., LOBO, A. A. G., VILLADIEGO, F. A. C. Digesta sampling sites and marker methods for estimation of ruminal outflow in bulls fed different proportions of corn silage or sugarcane. *Journal of animal science*, 92:2996-3006, 2014.
- SANTOS, F. A. P., R. CARARETO, R. S. MARQUES. Processamento de grãos para bovinos de corte. In: *Anais do Simpósio sobre Nutrição de Bovinos, 9.FEALQ, Piracicaba. p 403-432. 2011.*
- SILVA, B. C., PACHECO, M. V. C., ALHADAS, H. M., PEREIRA, J. M. V., PAULINO, P. V. R., PAULINO, M. F., VALADARES FILHO, S. C. Influência da reconstituição dos grãos de milho ou sorgo no desempenho de novilhos Nelore super precoces em confinamento. In: *X Simpósio Internacional de Produção de Bovinos de Corte, Viçosa. Anais... Viçosa: DZO-UFV, 232-233, 2016.*
- 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, n. 9, p. 1950-1959, 1999.
- VALADARES FILHO, S.C., MARCONDES, M.I., CHIZZOTTI, M.L, PAULINO, P. V. R. *Nutrient Requirements of Zebu Beef Cattle – BR-CORTE, second edition,*

Viçosa/UFV, Suprema Gráfica Ltda., p. 193, 2010. Disponível em:
<http://www.brcorte.com.br/br>.

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

ZINN, R. A. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. Journal of Animal Science. v. 68, p. 767-775. 2009.

CAPÍTULO 2

Estimação da digestibilidade *in vivo* através de procedimentos de incubação ruminal *in situ* e *in vitro* de dietas à base de milho ou sorgo com diferentes processamentos

Resumo – Objetivou-se avaliar os tempos de incubação ruminal *in situ* e *in vitro* capazes de prever a digestibilidade *in vivo* da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e amido de dietas completas. Foram utilizados 5 bovinos machos, não castrados, da raça Nelore com idade média de 8 ± 1 meses e peso corporal médio de 262 ± 18 kg, distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 5×5 incompleto, sendo quatro dietas e cinco períodos. Foram avaliadas quatro dietas experimentais compostas de 28,44% de silagem de milho, 60,83% de grãos de milho moído seco (MMS), sorgo moído seco (SMS), silagem de grãos de milho reconstituídos (SMR) ou silagem de grãos de sorgo reconstituídos (SSR) e 10,73% de suplemento proteico mineral. O suplemento proteico mineral foi composto de: 62,90% de farelo de soja, 27,40% de núcleo mineral Nutronbeef[®], 9,70% de ureia + sulfato de amônio na proporção 9:1. Aproximadamente 60 dias antes do início do experimento procedeu-se à reconstituição e ensilagem dos grãos, que tiveram a matéria seca ajustada para aproximadamente 65%. Cada um dos cinco períodos experimentais teve duração de 19 dias, sendo 14 para adaptação e 4 dias de coleta. Do 15º ao 19º dia foi realizada coleta total de fezes. Ensaios de degradabilidade *in situ* e *in vitro* das dietas foram realizados concomitantemente ao ensaio de digestibilidade *in vivo* do 15º ao 19º dia do período experimental. As análises estatísticas dos resíduos de incubação foram realizadas através do procedimento NLIN do SAS, versão 9.4, a partir do algoritmo Marquardt para obter os parâmetros das equações de regressão não lineares. O tempo necessário para estimar a digestibilidade *in vivo* da MS, MO e amido foi de 24 horas para o método *in situ*. Já a digestibilidade da MS e MO pode ser obtida com a incubação *in vitro* por 36. Conclui-se que a digestibilidade *in vivo* pode ser predita por diferentes tempos de incubação *in situ* e *in vitro*.

Palavras-chave: degradabilidade, náilon, tempo de incubação

CHAPTER 2

Estimation of *in vivo* digestibility through *in situ* and *in vitro* ruminal incubation procedures in Nellore cattle

The experiment was developed aiming to evaluate the capability of *in vitro* and *in situ* different incubation periods to accurately predict *in vivo* dry matter (DM), organic matter (OM), and starch digestibility of complete diets. Five Nellore bulls with an average age of 8 ± 1 months and an average bodyweight of 262 ± 18 kg were used. The bulls were distributed in a incomplete 5×5 latin square design, with 4 diets and 5 periods. Diets were composed of 28.44% corn silage, 10.73% protein and mineral supplement, and 60.83% dry ground corn (DGC); or dry ground sorghum (DGS); or reconstituted corn grain silage (RCS); or reconstituted sorghum grain silage (RSS). The protein and mineral supplement were composed of 62.90% soybean meal, 27.40% mineral mixture Nutronbeef[®], 9.70% mixture of urea + ammonium sulfate (9:1). The rehydration and ensiling of the corn and sorghum grains were performed approximately 60 days before the beginning of the experiment. Rehydration process consisted in adjust grain DM to approximately 65%. Each period lasted 19 days, being 14 days for acclimation and 5 days of data collection. *In vitro* and *in situ* incubations of DGC, DGS, RCS, and RSS diets were simultaneously performed with *in vivo* digestibility assay (from the 15th to 19th days). The *in vitro* and *in situ* incubations data were analyzed using the NLIN procedure of SAS, version 9.4. The best-fit values of the nonlinear parameters were chosen using the Marquardt algorithm. Also, Asymptotic confidence intervals were constructed for the parameters ($1 - \alpha = 0,95$). The *in vivo* DM, OM and starch digestibility were accurately estimated using 24-h *in situ* and 36-h *in vitro* incubations. Therefore, *in vivo* digestibility can be predicted by different *in situ* and *in vitro* incubation times.

Keywords: degradability, incubation time, nylon

INTRODUÇÃO

A digestibilidade é reconhecida como a principal fonte de variação do valor energético dos alimentos para ruminantes, sendo que, a forma mais acurada e utilizada para estimativa da digestibilidade é o método *in vivo* (Dijkstra et al., 2005). Porém, a crescente preocupação com o bem-estar animal faz com que ocorra maior pressão da comunidade sobre os comitês de ética, que vêm criando protocolos cada vez mais rigorosos e incentivando a redução ou, quando possível, a substituição dos animais por métodos laboratoriais alternativos. Além disso, em procedimentos *in vivo*, a aquisição de animais, os custos com alimentação, mão de obra e o tempo de execução do estudo são fatores de extrema importância econômica, que muitas vezes são responsáveis por inviabilizar um projeto de pesquisa.

Uma alternativa ao procedimento *in vivo* é o método *in situ*, sendo uma opção viável para reduzir o número de animais utilizados, o tempo de coleta e a quantidade de alimento a ser utilizada. Outra possibilidade é o método *in vitro*, em que é possível avaliar grande número de alimentos ou dietas de uma única vez. A correlação entre os métodos *in situ* e *in vitro* foi estimada por vários trabalhos (Rymer e Givens, 2002; Gosselink et al., 2004; Suksombat e Mernkrathoke, 2005), no entanto, poucos correlacionam os resultados *in situ* e *in vitro* com os valores obtidos *in vivo* (NRC, 2001; Krizsan et al., 2012; Stalker et al., 2013). Além disso, grande parte dos trabalhos avaliam apenas alimentos (Ferraretto, et al., 2015; Lopes et al., 2015; Holt et al., 2016) não dietas completas e poucas vezes são realizados concomitantemente com o ensaio *in vivo*.

Sabe-se que o método de processamento do grão pode acarretar em melhora na digestibilidade, quando comparado à sua forma natural (Owens et al., 1986). No Brasil, os grãos de milho e de sorgo são os mais utilizados na alimentação de bovinos em confinamento e métodos primários de beneficiamento, como a moagem, são os mais praticados (Oliveira e

Millen, 2014). Porém, devido à matriz proteica que envolve os grânulos de amido, mesmo quando triturados ou parcialmente quebrados, os grânulos de amido do milho e sorgo podem apresentar resistência à degradação microbiana no rúmen (Jobim e Reis, 2001). Neste contexto, verifica-se o aumento do interesse de nutricionistas na busca de processamentos que melhorem a digestibilidade do amido nos grãos (Pinto e Millen, 2016). Uma alternativa se baseia no processo de reconstituição e ensilagem dos grãos de milho e de sorgo, pode melhorar a fermentação ruminal dos grãos no rúmen (Allen et al., 2009). Uma dos mecanismos para explicar esta melhora seria a quebra das ligações de amido com as prolaminas do milho e do sorgo durante o processo da ensilagem.

Tem-se como hipóteses que a ensilagem de grãos reconstituídos modifica as frações A, B e as taxas de degradação (kd) da MS, MO e amido e que a digestibilidade *in vivo* destes componentes das dietas pode ser estimada por diferentes tempos de incubação, quando se utilizam os procedimentos *in situ* e *in vitro*. Objetivou-se padronizar a coleta de informações *in situ* e *in vitro* para obtenção dos parâmetros de degradação e verificar os tempos de incubação adequados para estimação da digestibilidade *in vivo*.

MATERIAL E MÉTODOS

Processo de ensilagem

Aproximadamente 60 dias antes do início do experimento, foi realizado o processo de reconstituição dos grãos de milho e sorgo. Cerca de 6000 kg de cada um dos grãos foram moídos em moinho tipo martelo (Modelo: DMP-2; Nogueiras; São João da Boa Vista - SP - Brasil) com peneiras de porosidade de 3 mm, sendo em seguida mensurado o teor de matéria seca dos mesmos. Posteriormente foi realizada a adição de água até que fosse atingido o teor de aproximadamente 35% de umidade e ensilagem em silos tipo manilha de 1m³, na densidade de 1000 kg/m³. Outros 6000 kg de cada um dos grãos passaram apenas pelo processo de moagem, sendo armazenados secos.

Foram coletadas amostras pontuais dos grãos de milho e de sorgo nos tempos de ensilagem 0, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. As amostras foram armazenadas a -80°C e liofilizadas, sendo posteriormente moídas em peneiras de porosidade 1 mm e destinadas a análise das frações dos compostos nitrogenados.

Animais, instalações e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Confinamento Experimental do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. Os procedimentos experimentais seguiram o protocolo aprovado pelas normas da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Federal de Viçosa, protocolo 42/2016.

Foram utilizados cinco animais machos não castrados da raça Nelore com idade média de 8 ± 1 mês e peso corporal médio de 262 ± 18 kg, canulados no rúmen. Os animais foram alocados em baias providas de piso e comedouros de concreto, além, de bebedouros automáticos individuais com água limpa e fresca permanentemente à disposição.

Foram realizados quatro experimentos simultaneamente, utilizando os mesmos animais. Os experimentos foram delineados em esquema quadrado latino 5×5 incompleto, utilizando cinco animais, quatro dietas e cinco períodos experimentais de 19 dias cada um. Do 1° ao 14° dia: adaptação às dietas experimentais (Machado et al., 20016), enquanto que do 15° ao 19° dia foram realizados concomitantemente o ensaio de digestibilidade *in vivo* das dietas experimentais (Experimento 1), ensaio de degradabilidade *in situ* dos principais grãos que compunham as dietas (Experimentos 2), ensaio de degradabilidade *in situ* das dietas experimentais (Experimento 3) e o ensaio de degradabilidade *in vitro* das dietas experimentais (Experimento 4).

Experimento 1 – Ensaio de digestibilidade in vivo

Foram avaliadas quatro dietas experimentais a base de silagem de milho e concentrado na proporção 28:72 (com base na MS), que variaram quanto ao principal tipo de

grão que compunha o concentrado, sendo eles: milho moído seco, sorgo moído seco, silagem de grãos de milho reconstituído ou silagem de grãos de sorgo reconstituído. As dietas foram isoproteicas, com aproximadamente 130g de PB/kgMS, formuladas para ganho de 1,2 kg/dia de acordo com as recomendações do BR-CORTE (Valadares Filho et al., 2010). A composição química dos alimentos utilizados nas dietas experimentais está apresentada na Tabela 1 e a composição alimentar e química das dietas é apresentada na Tabela 2.

Tabela 1. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca (MS)

Ingredientes	MS ¹	MO ²	PB ³	g/kg de MS ¹				
				EE ⁴	FDNcp ⁵	CNF ⁶	FDNi ⁷	Amido
Silagem de milho	269	920	67,7	33,6	501	318	194	214
Milho moído	878	988	88,0	52,6	94,0	753	11,1	745
Milho reconstituído	622	987	89,0	53,7	62,2	777	11,9	747
Sorgo moído	874	989	88,9	34,1	75,9	771	12,4	750
Sorgo reconstituído	629	986	87,0	32,5	64,9	799	12,1	739
Farelo de soja	883	930	495	13,4	124	298	15,0	65,5
Nutronbeef [®]	978	149	-	-	-	-	-	-
Ureia + SA*	969	996	2631	-	-	-	-	-

*Proporção ureia/sulfato de amônio de 9:1; ¹Matéria seca; ²Matéria orgânica; ³Proteína bruta; ⁴Extrato etéreo; ⁵Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína bruta; ⁶Carboidratos não fibrosos; ⁷Fibra insolúvel em detergente neutro indigestível

Um dia antes do início de cada período de coleta (14º dia experimental), o teor de matéria seca do volumoso e dos grãos reconstituídos foi estimado no intuito de ajustar a quantidade de cada ingrediente da dieta fornecida aos animais.

Os grãos de milho e sorgo (ensilados ou secos), a silagem de milho e o suplemento proteico mineral foram pesados separadamente, posteriormente misturados e fornecidos aos animais, sempre às 8h00 e 16h00. A dieta foi ajustada diariamente para que as sobras fossem mantidas entre 5 e 10% do ofertado com base na matéria natural.

Tabela 2. Composição alimentar e química das dietas experimentais

Itens	Dieta			
	Seco		Reconstituído	
	Milho	Sorgo	Milho	Sorgo
Ingredientes g/kg de matéria seca				
Silagem de milho	284	284	284	284
Milho moído seco	608	-	-	-
Silagem de milho reconstituído	-	-	608	-
Sorgo moído seco	-	608	-	-
Silagem de sorgo reconstituído	-	-	-	608
Farelo de soja	67.5	67.5	67.5	67.5
Premix mineral ¹	29.4	29.4	29.4	29.4
Ureia + SA ²	10.4	10.4	10.4	10.4
Composição g/kg de matéria seca				
Matéria seca	541	539	465	468
Matéria orgânica	930	931	930	929
Proteína bruta	134	134	134	133
Extrato etéreo	42,4	31,2	43,1	30,2
Fibra em detergente neutro ³	208	208	192	192
Carboidratos não fibrosos ⁴	563	575	578	590
Amido	518	521	519	515

¹ Níveis de garantia do premix (por kg de MS): 200–220 g de Ca, 10 mg de Co (Min), 500 mg de Cu (Min), 22 g de S (Min), 333 mg de Fe (Min), 178.41 mg de F (Max), 10 g de P (Min), 25 mg de I (Min), 17 g de Mg (Min), 1500 mg de Mn (Min), 1100 mg de monensina, 100 x 10⁹ CFU de *Saccharomyces cerevisiae* (Min), 6.6 mg de Se (Min), 50 g de Na (Min), 100,000 IU de vitamina A (Min), 13,000 IU de vitamina D₃ (Min), 150 IU de vitamina E (Min), e 2,000 mg de Zn (Min).

² Ureia + sulfato de amônio na relação 9:1.

³ Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína bruta.

⁴ Carboidratos não fibrosos = 100 – [proteína bruta + fibra insolúvel em detergente neutro + extrato etéreo + cinzas].

As sobras e os ingredientes das dietas utilizados para avaliação da digestibilidade *in vivo*, exceto o suplemento proteico mineral, foram amostrados diariamente após os 14 dias de adaptação às dietas experimentais, sendo imediatamente acondicionadas a -20°C. Os ingredientes do suplemento proteico mineral foram amostrados diretamente dos silos da fábrica de ração nos dias da confecção das misturas. As sobras foram amostradas em torno de 10% do total. Uma amostra composta de cada ingrediente das dietas e das sobras de cada animal foi realizada por período, sendo submetida à secagem em estufa com circulação

forçada a 55°C por 72 horas, quando necessário e posteriormente processadas em moinho de facas (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneira de porosidade 1 mm para posteriores análises laboratoriais.

Os animais foram submetidos à coleta total de fezes durante cinco dias consecutivos, iniciando-se no 15º dia de cada período experimental. As fezes foram coletadas diretamente no piso de concreto e colocadas em baldes previamente pesados e com tampa. Ao final de 24 horas de coleta, os baldes contendo as fezes foram pesados, homogeneizados e uma amostra de aproximadamente 250 gramas foi acondicionada em bandeja de alumínio previamente pesada, para secagem em estufa com ventilação forçada a 55°C durante 72 horas. Após o período de secagem, as amostras referentes aos cinco dias de coleta foram moídas em moinho de facas (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras de porosidade 1 mm e foi realizada uma amostra composta por animal proporcional ao total de fezes de cada dia, com base na amostra seca ao ar (ASA), sendo estas acondicionadas em potes plásticos para análises futuras.

Experimento 2 – Degradabilidade *in situ* dos principais grãos que compunham as dietas

Entre o 15º e 19º dia de cada período experimental foi realizado o ensaio de degradabilidade *in situ* dos principais grãos que compunham as dietas experimentais sendo eles: milho moído seco, sorgo moído seco, silagem de grãos de milho reconstituídos e silagem de grãos de sorgo reconstituídos.

As amostras dos grãos foram coletadas e armazenadas a -20°C entre o 4º e 10º dia de cada período experimental, sendo posteriormente levadas para secagem parcial em estufa com ventilação forçada a 55°C durante 72 horas, quando necessário. Após o período de secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras de porosidade 2 mm para o procedimento *in situ* e 1 mm para as análises laboratoriais.

Foi incubado em cada animal o grão referente à dieta experimental que o mesmo estava recebendo no ensaio *in vivo*. Neste procedimento, foram avaliados onze tempos de incubação 0, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. Foram utilizados sacos de náilon com poros de 50 micras (μm), medindo aproximadamente 8 x 16 cm (Sefar Nitex, Sefar, Thal, Switzerland), nos quais foram colocados 5 g do grão utilizado na dieta.

Foram incubados três sacos de náilon por tempo de incubação, totalizando 30 sacos por animal. O tempo zero não foi incubado, sendo apenas lavado no final do processo junto com os demais sacos.

Os sacos separados por horário foram amarrados em uma corrente metálica, a qual foi presa na tampa da cânula ruminal por uma extremidade e a outra possuía um peso de ferro maciço para evitar que os sacos flutuassem no conteúdo ruminal. A incubação foi iniciada pelo maior tempo, assim, todos os sacos foram retirados simultaneamente, padronizando a lavagem dos mesmos.

O procedimento de incubação e retirada do material do rúmen ocorreu simultaneamente nos quatro animais. Imediatamente depois de retirados do rúmen, os sacos foram lavados em água corrente até que a mesma fluísse límpida, sendo posteriormente colocados para secar em estufa de ventilação forçada de ar a 55 °C por 72 horas e em seguida colocados em estufa não ventilada 105 °C por 2 horas. Após esse período, os resíduos foram pesados para obtenção da MS degradada.

Ao final destes procedimentos, os três sacos referentes ao mesmo horário e mesmo animal foram agrupados e formaram uma única amostra do grão. Assim, foram obtidas 11 amostras compostas referentes aos resíduos de incubação de cada grão por período experimental, por animal. Os resíduos foram moídos em moinho de facas (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras de porosidade 1 mm e alocados em sacos plásticos para posteriores análises laboratoriais.

Experimento 3 – Degradabilidade in situ das dietas experimentais

As incubações das dietas experimentais foram realizadas entre o 15° e 19° dia de cada período experimental. Entre o 4° e 10° dia de cada período experimental, as amostras de silagem de milho e dos concentrados (grão + suplemento proteico mineral) referentes às dietas experimentais foram coletadas e armazenadas a -20°C, sendo posteriormente levadas para secagem parcial em estufa com ventilação forçada a 55°C durante 72 horas, quando necessário. Após o período de secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras de porosidade 2 mm para o procedimento *in situ* e 1 mm para as análises laboratoriais.

Os procedimentos adotados neste experimento foram similares aos do experimento 2, porém, foi incubado em cada animal a dieta que o mesmo estava recebendo no ensaio *in vivo*. Foram pesados aproximadamente 5 g do da dieta experimental. Para compor a dieta no saco de náilon, o volumoso e o concentrado foram pesados separadamente respeitando a relação volumoso:concentrado com base na MS.

Experimento 4 – Degradabilidade in vitro das dietas experimentais

Entre o 15° e 19° dia de cada período experimental foi realizado o ensaio de degradabilidade *in vitro* das dietas experimentais. Neste procedimento, não foram avaliadas as digestibilidades dos grãos isoladamente, devido à limitação de espaço da incubadora *in vitro* (TE-150, Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil), que é de 25 sacos por frasco.

Os procedimentos de amostragem e processamento da silagem de milho e dos concentrados referentes às dietas experimentais foram similares aos realizados nos experimentos 2 e 3. Após o período de secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras de porosidade 1 mm para o procedimento *in vitro* e para as análises laboratoriais.

Para a realização do procedimento *in vitro*, foram utilizados sacos F57 ANKON[®], onde foram colocados 0,5 g de amostra da dieta completa, sendo pesado o volumoso e o concentrado separadamente, mantendo a relação volumoso:concentrado. Foram avaliados 9 tempos de incubação: 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas.

Em cada um dos quatro frascos da incubadora foram incubados três sacos de F57 por dieta e por tempo, mais um branco (saco sem amostra), totalizando 25 sacos por dieta em cada rodada analisada, uma vez que, o tempo zero foi destinado apenas ao processo de lavagem. Os procedimentos adotados para o procedimento *in vitro* foram realizados conforme descrito abaixo.

No dia anterior ao procedimento, 6,4 litros de solução Tampão de Kansas (Silva e Queiroz, 2002) foram preparados, sendo 3,333 litros da solução A e 1,067 litros da solução B. Após a preparação, as soluções foram acondicionadas em uma sala climatizada a 39°C para a estabilização da temperatura.

No 15º dia do período experimental, antes de iniciar o experimento *in situ*, foi coletado 1 litro de líquido ruminal e aproximadamente 200g de partículas de cada um dos respectivos animais nos períodos, sendo estes acondicionados em recipientes térmicos adequados para a manutenção da temperatura e posteriormente levados à sala climatizada a 39°C, localizada a 50 metros do local de coleta. O líquido ruminal e as partículas dos quatro animais foram processados individualmente em liquidificador por 1 minuto e por fim filtrados em sacos de náilon com poros de 100 micras (μm), medindo aproximadamente 30 x 40 cm (Sefar Nitex, Sefar, Thal, Switzerland). Posteriormente foi colocado em cada um dos quatro frascos da incubadora *in vitro*, 400 ml do líquido ruminal já processado e filtrado referente ao tratamento avaliado e 1,6 litros da solução Tampão de Kansas, sendo 1,333 litros da solução A e 0,267 da solução B totalizando 2 litros de mistura (solução + líquido ruminal).

Vale ressaltar que antes de ser colocada junto ao líquido ruminal foi feita a mistura das soluções A e B, onde o pH foi mensurado e quando necessário foi alterada a relação entre as soluções até que o pH fosse ajustado para 6,8. Em seguida foi borbulhado CO₂ na mistura por 30 segundos, sendo os recipientes vedados e alocados na incubadora. Em cada horário de incubação, os recipientes foram levados à sala climatizada e após incubação, foi borbulhado CO₂ por 30 segundos. O pH da solução foi monitorado logo após a abertura em todos os horários de incubação. Como no procedimento *in situ*, a incubação foi iniciada pelo maior tempo, assim, todos os sacos foram retirados simultaneamente, padronizando a lavagem dos mesmos.

Imediatamente depois de retirados dos frascos, os sacos foram lavados, juntamente com o tempo zero, em água corrente até que a mesma fique límpida, sendo colocados para secar em estufa de ventilação forçada de ar a 55 °C onde permaneceram por 72 horas e, a seguir, em estufa não ventilada 105° por 2 horas. Após esse período os sacos foram pesados para obtenção da digestibilidade da MS e armazenados para futuras análises.

Análises químicas

As amostras de alimentos foram analisadas quanto ao teor de MS, MO e nitrogênio segundo AOAC (2012) métodos 934.01, 930.05 e 981.10, respectivamente e extrato etéreo segundo AOAC (2006) método 945.16. A fibra insolúvel em detergente neutro foi analisado de acordo com a técnica descrita por Mertens (2002) sem a adição de sulfito de sódio, mas com a adição de alfa amilase termoestável (Lyquozime supra 2.2x, Novozymes; Araucária, PR, Brasil). As estimativas das frações nitrogenadas dos alimentos foram realizadas conforme descrito por Licitra et al., (1996). Os carboidratos não fibrosos foram calculados conforme Detmann e Valadares Filho (2010). A análise de amido foi realizada seguindo recomendações de Zinn (1990).

As amostras dos resíduos de incubação provenientes dos procedimentos de

degradabilidade *in situ*, bem como, as sobras e fezes foram analisadas quanto aos teores de MS, MO e amido, utilizando as mesmas técnicas descritas anteriormente.

Devido a baixa quantidade de amostras, ocasionadas pela capacidade suporte da incubadora, os resíduos de incubação provenientes dos procedimentos de degradabilidade *in vitro* foram analisados apenas quanto aos teores de MS e MO, utilizando as mesmas técnicas descritas anteriormente..

Cálculos e Análises estatísticas

Os resíduos de incubação obtidos através dos procedimentos *in vitro* e *in situ* em função do tempo foram estimados através do modelo assintótico de primeira ordem descrito por Ørskov e McDonald (1979):

$$\text{Deg}(t) = a + b \times (1 - e^{-kd \times t}),$$

em que: *Deg* (*t*) = fração da MS, MO ou amido degradada no tempo “*t*” (%); *a* = fração solúvel (%); *b* = fração insolúvel, mas potencialmente degradável no rúmen (%); *kd* = taxa de degradação da fração *b* (%h⁻¹); *t* = tempo de incubação (h).

Os tempos estimados para as incubações *in situ* e *in vitro* necessários para obter a digestibilidade *in vivo* foram obtidos pela equação:

$$T = -(\ln(1 - ((\text{dig } in \text{ vivo} - a)/b)))/kd,$$

em que: *T* = tempo estimado; *dig in vivo* = digestibilidade *in vivo* da MS MO ou amido.

As análises dos resíduos de incubação foram realizadas utilizando o procedimento NLIN do SAS, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC), a partir do algoritmo Marquardt para obter os parâmetros das equações de regressão não lineares para cada animal.

A construção dos intervalos de confiança assintóticos para a digestibilidade *in vivo* da MS, MO e amido ($1 - \alpha = 0,95$) e a análise dos parâmetros de degradação foram realizadas utilizando o PROC MIXED do SAS, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC) seguindo o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + a_j + p_k + e_{ijk}$$

em que: Y_{ijk} = variável resposta; μ = constante geral; D_i = efeito da dieta i (efeito fixo); a_j = efeito do animal j (efeito aleatório); p_k = efeito do período experimental k (efeito aleatório); e_{ijk} = erro aleatório residual. Com intuito de verificar questões biologicamente relevantes do efeito fixo, três contrastes ortogonais testaram os efeitos do tipo de grão, do método de processamento e a sua interação, sendo considerando 5% como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

RESULTADOS

Avaliação in situ dos parâmetros de degradação dos grãos utilizados nas dietas experimentais

Os parâmetros de degradação *in situ* dos principais grãos que compuseram as dietas experimentais, estimados através do ensaio de degradabilidade *in situ*, e a curva de degradação da MS, MO e amido são apresentados na Tabela 3 e Figura 1. Houve interação ($P < 0,01$) entre grãos e processamento para todos os fatores avaliados.

Para os parâmetros de degradação da MS e MO observa-se que, em ambos os processamentos, o milho apresenta maior ($P < 0,01$) fração A, menor ($P < 0,01$) fração B e maior ($P < 0,01$) kd quando comparado ao sorgo. De forma análoga, para ambos os grãos, silagens de grãos reconstituídos apresentam maior ($P < 0,01$) fração A, menor ($P < 0,01$) fração B e maior ($P < 0,01$) kd quando comparados aos grãos secos. Contudo, a amplitude de resposta do processo de reconstituição e ensilagem foi maior para os grãos de milho em relação ao sorgo, caracterizando o efeito de interação observado.

Com relação aos parâmetros de degradação do amido, analisando a interação dentro de cada tipo de grão, observa-se que as silagens de milho e de sorgo reconstituídos apresentaram maior ($P < 0,01$) fração A, menor ($P < 0,01$) fração B e maior ($P < 0,01$) kd quando comparados aos grãos de milho e sorgo secos, respectivamente. Avaliando o efeito

dentro de cada processamento, observa-se que, a silagem de milho reconstituído apresenta maior ($P < 0,01$) fração A, menor ($P < 0,01$) fração B e maior ($P < 0,01$) kd quando comparado a silagem de sorgo reconstituído. Contudo, não foi observada diferença para a fração A ($P = 0,80$) e para fração B ($P = 0,89$) entre os grãos de milho e sorgo no processamento seco, já a kd foi maior para o milho em relação ao sorgo.

Tabela 3. Estimativa dos parâmetros da degradação *in situ* da matéria seca, matéria orgânica e amido dos grãos de milho ou sorgo com diferentes processamentos

Parâmetro	Grãos				EPM ⁴	P-valor		
	Seco		Reconstituído			Grão (G)	Processamento (P)	G × P
	Milho	Sorgo	Milho	Sorghum				
Matéria seca								
A ¹	25.21 ^{Ab}	20.40 ^{Bb}	68.75 ^{Aa}	34.57 ^{Ba}	1.062	<0.01	<0.01	<0.01
B ²	71.67 ^{Ba}	78.94 ^{Aa}	25.96 ^{Bb}	63.89 ^{Ab}	1.222	<0.01	<0.01	<0.01
kd ³	0.092 ^{Ab}	0.042 ^{Bb}	0.255 ^{Aa}	0.069 ^{Ba}	0.010	<0.01	<0.01	<0.01
Matéria orgânica								
A	24.82 ^{Ab}	19.79 ^{Bb}	68.63 ^{Aa}	34.47 ^{Ba}	1.156	<0.01	<0.01	<0.01
B	72.15 ^{Ba}	79.53 ^{Aa}	26.14 ^{Bb}	64.30 ^{Ab}	1.271	<0.01	<0.01	<0.01
kd	0.091 ^{Ab}	0.042 ^{Bb}	0.252 ^{Aa}	0.069 ^{Ba}	0.009	<0.01	<0.01	<0.01
Amido								
A	23.51 ^{Ab}	22.76 ^{Ab}	63.52 ^{Aa}	36.22 ^{Ba}	2.074	<0.01	<0.01	<0.01
B	75.29 ^{Aa}	74.87 ^{Aa}	36.19 ^{Bb}	61.86 ^{Ab}	2.118	<0.01	<0.01	<0.01
kd	0.137 ^{Ab}	0.087 ^{Bb}	0.413 ^{Aa}	0.113 ^{Ba}	0.007	<0.01	<0.01	<0.01

¹ Fração solúvel (%).

² Fração insolúvel, mas potencialmente degradável no rúmen (%).

³ Taxa de degradação da fração b (h^{-1}).

⁴ Erro padrão da média.

^{Aa} Letras maiúsculas comparam os grãos (milho vs. sorgo) dentro de cada processamento. Letras minúsculas comparam os processamentos (seco vs. reconstituído) dentro de cada grão. Médias acompanhadas de letras diferentes diferem entre si ($P < 0.05$).

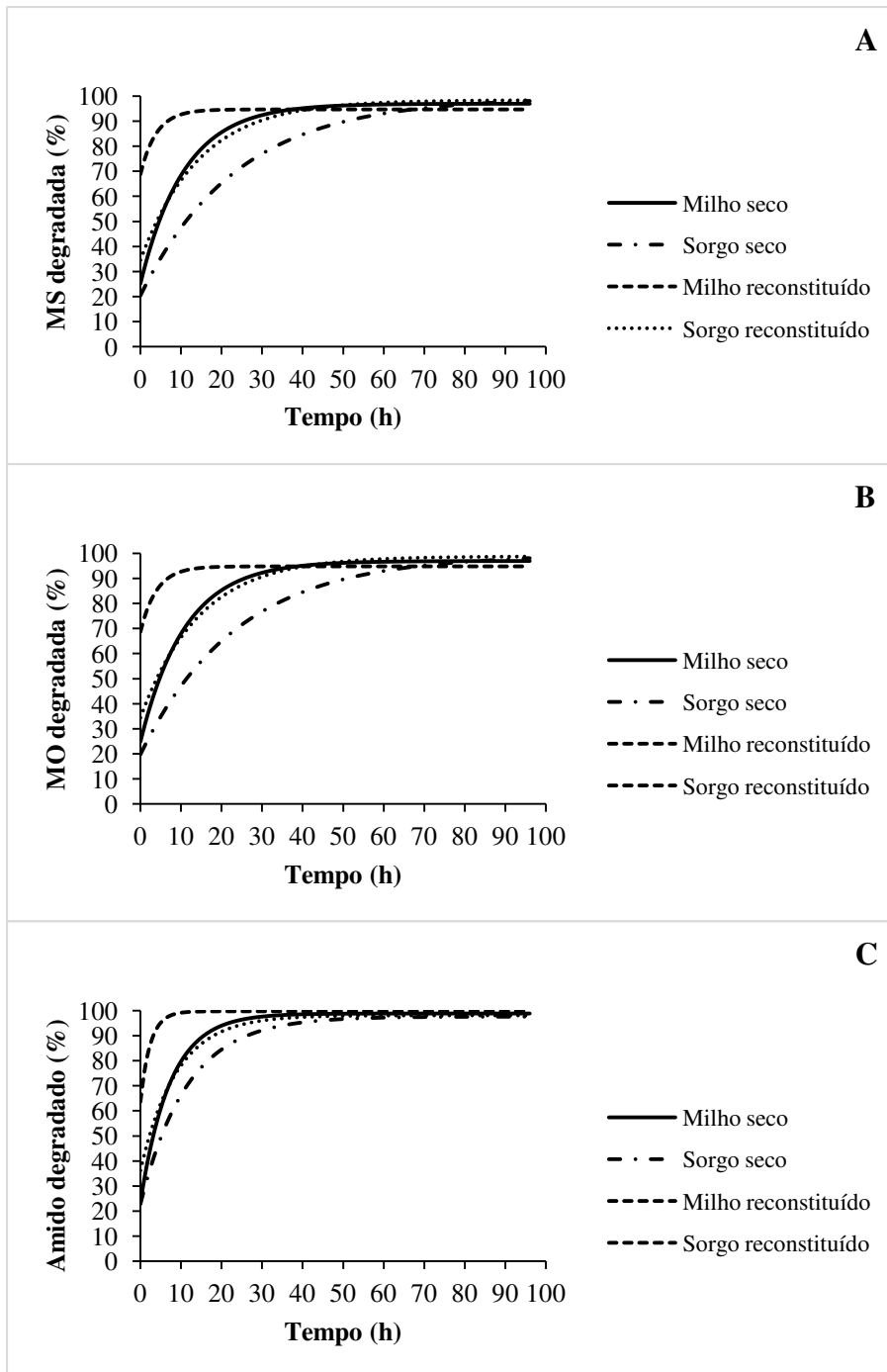


Fig. 1. Curvas de degradação obtidas *in situ* em diferentes tempos de incubação para grãos de milho ou sorgo com diferentes processamentos. A = matéria seca; B = matéria orgânica e C = amido

Avaliação in situ dos parâmetros de degradação das dietas experimentais

Houve interação ($P < 0,01$) entre tipo de grão e processamento para todos os parâmetros de degradação *in situ* avaliados (Tabela 4).

Tabela 4. Estimativas dos parâmetros da degradação da matéria seca, matéria orgânica e amido obtidos a partir de incubação ruminal *in situ* de dietas à base de milho ou sorgo com diferentes processamentos

Parâmetro	Dietas				EPM ⁴	P-valor		
	Seco		Reconstituído			Grão (G)	Processamento (P)	G × P
	Milho	Sorgo	Milho	Sorgo				
Matéria seca								
A ¹	28.96 ^{Ab}	26.28 ^{Ab}	55.63 ^{Aa}	34.46 ^{Ba}	1.504	<0.01	<0.01	<0.01
B ²	57.30 ^{Aa}	63.25 ^{Aa}	27.86 ^{Bb}	52.08 ^{Ab}	2.124	<0.01	<0.01	<0.01
kd ³	0.073 ^{Ab}	0.042 ^{Ba}	0.154 ^{Aa}	0.057 ^{Ba}	0.006	<0.01	<0.01	<0.01
Matéria orgânica								
A	27.78 ^{Ab}	24.97 ^{Ab}	55.37 ^{Aa}	33.43 ^{Ba}	1.512	<0.01	<0.01	<0.01
B	59.73 ^{Aa}	65.46 ^{Aa}	29.38 ^{Bb}	54.60 ^{Ab}	2.093	<0.01	<0.01	<0.01
kd	0.073 ^{Ab}	0.042 ^{Ba}	0.154 ^{Aa}	0.057 ^{Ba}	0.006	<0.01	<0.01	<0.01
Amido								
A	23.30 ^{Ab}	20.82 ^{Ab}	57.16 ^{Aa}	33.31 ^{Ba}	1.482	<0.01	<0.01	<0.01
B	75.83 ^{Aa}	75.87 ^{Aa}	42.35 ^{Bb}	64.91 ^{Ab}	1.491	<0.01	<0.01	<0.01
kd	0.101 ^{Ab}	0.084 ^{Aa}	0.249 ^{Aa}	0.086 ^{Ba}	0.007	<0.01	<0.01	<0.01

¹ Fração solúvel (%).

² Fração insolúvel, mas potencialmente degradável no rúmen (%).

³ Taxa de degradação da fração b (h⁻¹).

⁴ Erro padrão da média.

^{Aa} Letras maiúsculas comparam os grãos (milho vs. sorgo) dentro de cada processamento. Letras minúsculas comparam os processamentos (seco vs. reconstituído) dentro de cada grão. Médias acompanhadas de letras diferentes diferem entre si ($P < 0.05$).

Ao avaliar os parâmetros de degradação da MS, MO e amido das dietas dentro de cada tipo de grão, verifica-se maior ($P < 0,01$) fração A e menor ($P < 0,01$) fração B para dietas à base de grãos reconstituídos em relação às dietas à base de grãos secos. Avaliando o efeito dentro de cada processamento, observa-se que, a dieta à base de silagem de milho reconstituído apresenta maior ($P < 0,01$) fração A e menor ($P < 0,01$) fração B quando comparada à dieta à base de silagem de sorgo reconstituído. Contudo, não foi observada diferença para a fração A e para fração B da MS ($P = 0.11$; $P = 0.06$), MO ($P = 0.07$; $P = 0.06$) e amido ($P = 0.17$; $P = 0.98$) entre às dietas à base de milho e sorgo secos.

Não foi verificada diferença na kd da MS ($P = 0.15$) e da MO ($P = 0.08$) para a dieta à base de silagem de sorgo reconstituído quando comparada à dieta à base de sorgo seco. Por outro lado, a dieta à base de silagem de milho reconstituído e as dietas à base de milho apresentaram maior ($P < 0,01$) kd em relação a dietas à base de milho seco e dietas à base de sorgo, respectivamente.

Com relação à kd do amido, não foi verificada diferença ($P = 0.67$) para a dieta à base de silagem de sorgo reconstituído quando comparada à dieta à base de sorgo seco. Entretanto, a dieta à base de silagem de milho reconstituído apresenta maior ($P < 0,01$) kd em relação a dieta à base de milho seco. De forma análoga, não foi verificada diferença ($P = 0.070$) na kd do amido para a dieta à base de milho seco quando comparada a dieta à base de sorgo seco. Entretanto, a dieta à base de silagem de milho reconstituído apresenta maior ($P < 0,01$) kd em relação a dieta à base de silagem de sorgo reconstituído.

Avaliação in vitro dos parâmetros de degradação das dietas experimentais

Os parâmetros de degradação *in vitro* são apresentados na Tabela 5. Verificou-se efeito de processamento e de tipo de grão para as frações A e fração B da MS e MO, sendo que, dietas à base de milho e dietas à base de silagens de grãos reconstituídos apresentaram maior ($P < 0,01$) fração A e menor ($P < 0,01$) fração B em relação às dietas contendo sorgo e dietas à base de grãos secos, respectivamente.

Não foi observada diferença na kd para MS ($P = 0.95$) e MO ($P = 0.77$) para a dieta à base de silagem de sorgo reconstituído quando comparada à dieta à base de sorgo seco. Entretanto, a dieta à base de silagem de milho reconstituído apresenta maior ($P < 0,01$) kd em relação a dieta à base de milho seco. De forma análoga, não foi verificada diferença na kd para MS ($P = 0.67$) e MO ($P = 0.46$) para a dieta à base de milho seco quando comparada à dieta à base de sorgo seco. Entretanto, a dieta à base de silagem de milho reconstituído apresenta maior ($P < 0,01$) kd em relação a dieta à base de silagem de sorgo reconstituído.

Tabela 5. Estimativas dos parâmetros da degradação da matéria seca e matéria orgânica obtidos a partir de incubação ruminal *in vitro* de dietas à base de milho ou sorgo com diferentes processamentos

Parâmetro	Dietas				EPM ⁴	P-valor		
	Seco		Reconstituído			Grão (G)	Processamento (P)	G × P
	Milho	Sorgo	Milho	Sorgo				
Matéria Seca								
A ¹	27.68	21.17	42.31	35.98	2.480	0.01	<0.01	0.96
B ²	55.53	66.53	42.29	49.79	2.599	<0.01	<0.01	0.73
kd ³	0.043 ^{Ab}	0.041 ^{Aa}	0.066 ^{Aa}	0.041 ^{Ba}	0.004	<0.01	0.01	0.01
Matéria Orgânica								
A	26.48	20.39	42.78	35.53	2.327	0.01	<0.01	0.76
B	57.52	68.43	43.02	51.25	2.517	<0.01	<0.01	0.87
kd	0.043 ^{Ab}	0.040 ^{Aa}	0.062 ^{Aa}	0.041 ^{Ba}	0.003	<0.01	0.01	0.02

¹ Fração solúvel (%).

² Fração insolúvel, mas potencialmente degradável no rúmen (%).

³ Taxa de degradação da fração b (h⁻¹).

⁴ Erro padrão da média.

^{Aa} Letras maiúsculas comparam os grãos (milho *vs.* sorgo) dentro de cada processamento. Letras minúsculas comparam os processamentos (seco *vs.* reconstituído) dentro de cada grão. Médias acompanhadas de letras diferentes diferem entre si ($P < 0.05$).

Estimativa da digestibilidade *in vivo* através dos procedimentos *in situ* e *in vitro*

O intervalo de confiança ($1 - \alpha = 95\%$) da digestibilidade *in vivo* foi utilizado para estimativa dos tempos de incubação onde as degradabilidades *in situ* e *in vitro* representam a digestibilidade *in vivo* da MS, MO e amido em cada uma das quatro dietas avaliadas (Tabela 6).

Após análise dos tempos de incubação, verificou-se que as degradabilidades da MS, MO e amido contidas no intervalo de tempo entre 19 e 24 horas de incubação *in situ* se apresentaram dentro do intervalo de confiança de suas respectivas digestibilidades obtidas *in vivo* para todas as dietas experimentais (Tabela 6). Já os valores de degradabilidade da MS e

MO obtidos no intervalo de tempo entre 25 e 37 horas de incubação *in vitro* foram semelhantes às médias obtidas *in vivo* para as dietas avaliadas.

Tabela 6. Médias, intervalos de confiança ($1 - \alpha = 0,95$) das digestibilidades *in vivo*, degradabilidade *in situ* com 24 horas e *in vitro* 36 horas de incubação para matéria seca, matéria orgânica e amido de dietas à base de milho ou sorgo com diferentes processamentos

Digestibilidade <i>in vivo</i> IC 95% ¹	Dietas			
	Seco		Reconstituído	
	Milho	Sorgo	Milho	Sorgo
	Matéria seca (%)			
Limite inferior	70.36	63.26	73.72	66.93
Média	75.04	67.91	78.40	71.62
Limite superior	79.73	72.56	83.09	76.30
24h <i>in situ</i>	76.32	66.45	82.80	73.28
36h <i>in vitro</i>	71.40	72.49	80.67	74.39
	Matéria orgânica (%)			
Limite inferior	72.13	64.68	75.80	68.86
Média	76.74	69.27	80.42	73.48
Limite superior	81.35	73.85	85.03	78.09
24h <i>in situ</i>	77.15	66.54	84.43	74.13
36h <i>in vitro</i>	72.07	72.61	81.18	75.07
	Amido (%)			
Limite inferior	89.32	82.21	95.07	87.16
Média	91.51	84.39	97.26	89.35
Limite superior	93.70	86.60	99.45	91.54
24h <i>in situ</i>	92.41	86.59	99.40	89.98

¹Intervalos de confiança para a digestibilidade *in vivo* dos componentes das dietas experimentais ($1 - \alpha = 0,95$).

DISCUSSÃO

Parâmetros de degradação dos grãos e dietas experimentais

O amido é o principal componente nos grãos de milho e sorgo, representando mais de 70% da matéria seca destes cereais. Conseqüentemente, as variações nos parâmetros de degradação do amido tiveram reflexo direto sobre a degradabilidade da MS e MO, o que explica o comportamento similar entre estes três componentes nos grãos e dietas avaliados.

As prolaminas do sorgo (kafirinas) e do milho (zeínas) são semelhantes (Doudu et al., 2003) e merecem atenção especial por serem insolúveis e possuírem resistência à degradação ruminal (Sniffen, 1974; Gibbon e Larkins, 2005). Essas proteínas são responsáveis pela

formação de corpos proteicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido no endosperma dos cereais. Uma das hipóteses deste trabalho é que, o tipo de grão não influenciaria os parâmetros de degradação da MS, MO e amido pela similaridade da composição química e semelhança entre as prolaminas entre o milho e sorgo. Porém, de maneira contrária a hipótese, o milho apresentou, para todos componentes avaliados, maior fração A e kd, além de menor fração B quando comparado ao sorgo. Apesar da semelhança entre as prolaminas, as kafirinas são consideradas mais hidrofóbicas que as zeínas (Duodu et al., 2003). A dificuldade de hidratação das partículas no sorgo pode contribuir para redução da quantidade de material solubilizado e na velocidade de colonização deste material no rúmen, o que explicaria os resultados obtidos.

Outra hipótese deste estudo é que o processo de ensilagem de grãos reconstituídos promoveria alterações dos parâmetros de degradação da MS, MO e amido. Corroborando com essa hipótese, verificou-se que silagens de grãos reconstituídos apresentaram maior fração A e kd, e menor fração B quando comparados aos grãos secos para todos componentes avaliados. Os processos físicos, químicos e biológicos decorrentes da reconstituição e ensilagem dos grãos podem causar a quebra das prolaminas, ou até mesmo da própria estrutura dos grânulos de amido (Antunes et al., 2011; Hoffman et al., 2011), permitindo aumento da área exposta à ação enzimática dos microrganismos ruminais (Hoffman et al., 2011). Este conjunto de fatores pode propiciar o aumento na quantidade de material solúvel e na kd. Resultados similares aos encontrados neste trabalho foram verificados por Pereira (2012), onde o processo de reconstituição e ensilagem dos grãos de milho e sorgo promoveram aumento na fração A e redução na fração B da MS.

Vale ressaltar que, o aumento na fração A e na kd e redução da fração B da MS, MO e amido, quando os grãos foram reconstituídos em relação aos grãos secos foi mais proeminente para o milho quando comparado ao sorgo, o que caracterizou o efeito de

interação. Corroborando com esse resultado, Pereira et al. (2011) verificaram aumento na degradabilidade da MS para silagens de grãos de milho e sorgo reconstituídos, quando comparada os grãos secos, porém, menores valores foram verificados para os grãos de milho em relação ao sorgo.

Segundo Valadares Filho et al. (2018), a quebra das prolaminas nas silagens de milho e sorgo reconstituídos é corroborada pela redução do nitrogênio insolúvel e aumento do nitrogênio não proteico na silagem de grãos reconstituídos quando comparada aos grãos secos (Figura 2). Apesar do processo de ensilagem alterar as frações da proteína para ambos os grãos, a redução do nitrogênio insolúvel e aumento do nitrogênio não proteico ao longo do tempo de ensilagem é maior para grãos de milho em relação aos grãos de sorgo (Valadares Filho et al., 2018).

No geral, tanto para o método *in situ* quanto para o método *in vitro* os parâmetros de degradação da MS, MO e amido das dietas apresentaram comportamento semelhante aos parâmetros de degradação *in situ* dos grãos. Isto pode ser explicado pela maior parte das dietas experimentais (60,83% com base na MS) ser composta pelos grãos avaliados.

Apesar de não haver diferença entre as frações A e B da MS, MO e amido, quando se comparam as dietas à base de milho seco e sorgo seco no ensaio *in situ*, observou-se que a kd para a dieta à base de milho seco foi maior, o que também seria justificado pelo maior hidrofobicidade das prolaminas do sorgo em relação ao milho (Duodu et al., 2003), que dificultaria a colonização das partículas de amido conforme já discutido anteriormente.

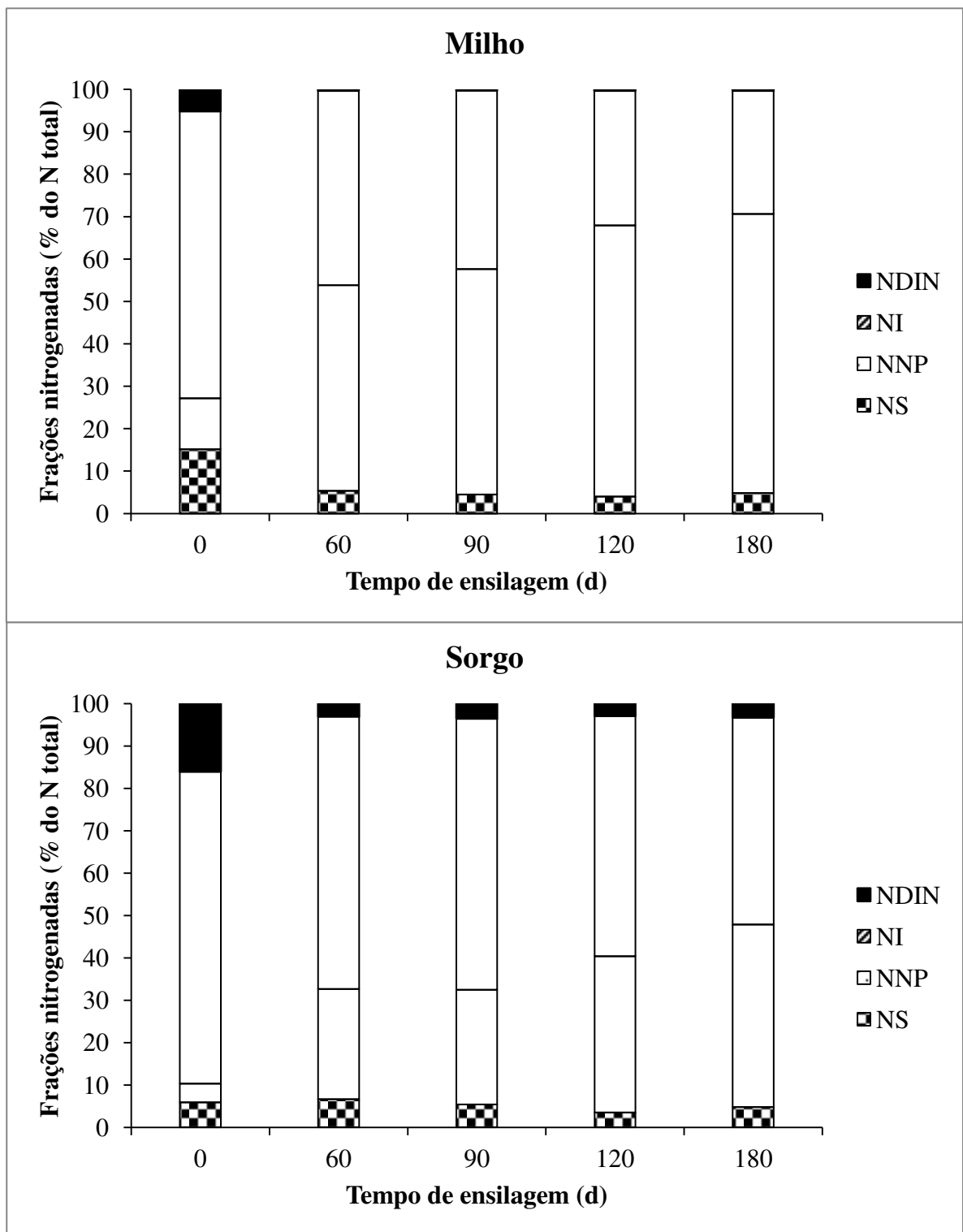


Fig. 2. Variação das frações nitrogenadas nos grãos de milho e sorgo reconstituídos após 0, 60, 90, 120 e 180 dias de ensilagem. NS = nitrogênio solúvel; NNP = nitrogênio não proteico; NI = nitrogênio insolúvel; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro.

Estimativa da digestibilidade in vivo

Métodos alternativos para estimação da digestibilidade *in vivo* vêm sendo estudados há vários anos. Os primeiros estudos estabelecendo a relação entre a digestibilidade *in vivo* e métodos laboratoriais foram reportados por Walker (1959) e Tilley e Terry (1963). Mais recentemente, outros autores (Krizsan et al., 2012; Stalker et al., 2013; Lopes et al., 2015) vêm se dedicando ao aprimoramento dos métodos para predição da digestibilidade *in vivo*.

Ainda não existe um consenso sobre qual método alternativo ao método *in vivo* seria mais acurado. Além disso, o uso de parâmetros e modelos variados (Tilley e Terry, 1963; Stern et al., 1997; Krizsan et al., 2012) dificulta a comparação de resultados entre os métodos. Soma-se a isso, grande parte dos estudos não efetuam o estudo *in situ* e *in vitro* juntamente com a digestibilidade *in vivo* e por realizarem a avaliação de alimentos, incluindo na maior parte forragens, e não dietas completas (Ferraretto, et al., 2015; Lopes et al., 2015; Holt et al., 2016).

Foi hipotetizado que a digestibilidade *in vivo* da MS, MO e amido de dietas completas pode ser estimada por diferentes tempos de incubação, quando se utiliza os procedimentos *in situ* e *in vitro*. Corroborando com a hipótese, verificou-se que, independente da dieta avaliada, o intervalo de tempo de 19 a 24 horas de incubação *in situ* e 25 a 36 horas de incubação *in vitro* permitem a estimativa adequada da digestibilidade *in vivo* para os componentes das dietas avaliados. Existem algumas razões que podem ser responsáveis por diferenças nos tempos de incubação *in situ* e *in vitro*, tais como: relativa lentidão na fermentação da fibra e o maior tempo necessário para desenvolvimento e colonização dos microrganismos nos sistemas *in vitro* (Dewhurst et al. 1995).

Apesar das dietas terem apresentado tempos de incubação, fora dos intervalos mencionados anteriormente, cujas degradabilidades estavam contidas dentro do intervalo de confiança da digestibilidade *in vivo*, optou-se pela adoção de tempos comuns entre as dietas

que facilitassem o processo de incubação. Sendo assim, são recomendadas 24 horas de incubação *in situ* para estimativa da digestibilidade *in vivo* da MS, MO e amido e 36 horas *in vitro* para MS e MO.

Vale ressaltar que, este é um estudo preliminar e são necessários mais estudos avaliando dietas compostas por diferentes alimentos, processamentos e relações volumoso:concentrado, afim de, verificar a influencia destes fatores sobre os tempos de incubação *in situ* e *in vitro* necessários para estimativa da digestibilidade *in vivo*.

CONCLUSÃO

Silagens de grãos de milho e sorgo reconstituídos apresentam maior fração A, menor fração B e maior kd quando comparados aos grãos secos. Os parâmetros de degradação das dietas possuem comportamento semelhante aos dos principais grãos que compõem as compõem. Os tempos de incubação necessários para estimativa da digestibilidade *in vivo* são menores para o procedimento *in situ* quando comparado ao *in vitro*.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J., OBA, M. Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of animal science*, v. 87, n. 10, p. 3317-3334, 2009.
- ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: *Nutrição de ruminantes*, 2.ed. São Paulo: Jaboticabal, p.239-260, 2011.
- AOAC. 2006. *Official methods of analysis*. 18th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- AOAC. 2012. *Official methods of analysis*. 19th ed. AOAC Int., Arlington, VA.
- DETMANN, E., SOUZA, M. A., VALADARES FILHO, S. C., QUEIROZ, A. C., BERCHIELLI, T. T., SALIBA, E. O. S., CABRAL, L. S., PINA, D. S., LADEIRA,

- M. M., AZEVEDO, J. A. G. (Eds.) Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco: Suprema, 214 p., 2012.
- DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 62:980–984, 2010.
- DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 62, p. 980–984. 2010.
- DEWHURST, R., D. HEPPER, A. WEBSTER. Comparison of in sacco and in vitro techniques for estimating the rate and extent of rumen fermentation of a range of dietary ingredients. *Animal feed science and technology* 51: 211-229.
- DIJKSTRA, J., FORBES, J. M., FRANCE, J. (Eds.). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Cabi, p. 87-121, 2005.
- DUODU, K. G., TAYLOR, J. R. N., BELTON, P. S., HAMAKER, B. R. Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science*, v. 38, n. 2, p. 117-131, 2003.
- FERRARETTO, L. F., FREDIN, S. M., SHAVER, R. D. Influence of ensiling, exogenous protease addition, and bacterial inoculation on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal in vitro starch digestibility in rehydrated and high-moisture corn. *Journal of Dairy Science*, v. 98, n. 10, p. 7318-7327, 2015.
- GIBBON, B. C., LARKINS, B. A. Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *TRENDS in Genetics*, v. 21, n. 4, p. 227-233, 2005.
- GOSSELINK, J. M. J., DULPHY, J. P., PONCET, C., JAILLER, M., TAMMINGA, S., CONE, J. W. Prediction of forage digestibility in ruminants using in situ and in vitro techniques. *Animal Feed Science and Technology*, v. 115, n. 3, p. 227-246, 2004.

- 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, n. 5, p. 2465-2474, 2011.
- HOLT, M. S., YANG, S. Y., CREECH, J. E., EUN, J. S., YOUNG, A. J. In situ ruminal degradation kinetics of corn silage hybrids harvested prior to or at maturity in dry and lactating dairy cows. *Journal of Animal and Plant Sciences*, v. 26, p. 46-53, 2016.
- HUHTANEN, P., A. SEPPÄLÄ, M. OTS, S. AHVENJÄRVI, M. RINNE. In vitro gas production profiles to estimate extent and effective first-order rate of neutral detergent fiber digestion in the rumen *Journal of Animal Science*. v. 86, p. 651–659. 2008.
- JOBIM, C. C., REIS, R. A. Produção e utilização de silagem de grãos úmidos de milho. Workshop sobre silagem. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.912-927, 2001.
- JUDKINS, M. B.; KRYSL, L. J.; BARTON, R. K. Estimating diet digestibility: a comparison of 11 techniques across six different diets fed to rams. **Journal of Animal Science**, v.68, p.1405-1415, 1990.
- KRIZSAN, S. J., AHVENJÄRVI, S., VOLDEN, H., BRODERICK, G. A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. *Journal of Dairy Science*, v. 93, p. 1138–1147. 2010.
- LICITRA, G., T. M. HERNANDEZ, AND P. J. VAN SOEST. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57:347–358, 1996.

- LOPES, F., RUH, K., COMBS, D. K. Validation of an approach to predict total-tract fiber digestibility using a standardized in vitro technique for different diets fed to high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98, 2596-2602, 2015.
- MACHADO, M. G., DETMANN, E., MANTOVANI, H. C., VALADARES FILHO, S. C., BENTO, C. B. P., MARCONDES, M. I., ASSUNÇÃO, A. S. Evaluation of the length of adaptation period for changeover and crossover nutritional experiments with cattle fed tropical forage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 222:132-148. 2016.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 85:1217–1240, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C, 381p, 2001.
- NRC, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Natl. Acad. Press, Washington, DC, USA.
- 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* 92, 449-503, 1979.
- OLIVEIRA, C. A., MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Animal Feed Science and Technology*, v. 197, p. 64-75, 2014.
- ØRSKOV, E. R., MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal Agricultural Science*, v.92, n.1, p.449-453, 1979.
- OWENS, F., ZINN, R. A., KIM, Y. K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of Animal Science*, v. 63, n. 5, p. 1634-1648, 1986.

- PEREIRA, M. L. R. Digestibilidade ruminal in vitro de grão reconstituído e ensilado de milho e sorgo com diferentes granulometrias. 62f. Dissertação Mestrado. Escola de Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Goiás, Brasil. 2012.
- PEREIRA, M. L. R., LINO, F. A., MELO, A. U. F., NETO, M. D. F., LIMA, D. A., FERNANDES, J. J. R., ARNHOLD, E. Digestibilidade de grão reconstituído de milho e sorgo ensilados com diferentes granulometrias. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, XXI, 2011, Maceió. Anais eletrônicos... CD-Rom, Maceió: UFAL, 2011.
- PINTO, A. C. J., MILLEN, D. D. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: X Simpósio Internacional de Produção de Bovinos de Corte, Viçosa. Anais... Viçosa: DZO-UFV, 103-120, 2016.
- 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.
- RYMER, C., GIVENS, D. I. Relationships between patterns of rumen fermentation measured in sheep and in situ degradability and the in vitro gas production profile of the diet. *Animal Feed Science and Technology*, v. 101, n. 1, p. 31-44, 2002.
- SILVA, D. J., QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos. Viçosa: Editora UFV, 235p, 2002.
- 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 University, Ithaca, p. 12, 1974
- STALKER, L. A., LORENZ, B. G., AHERN, N. A., KLOPFENSTEIN, T. J. Inclusion of forage standards with known in vivo digestibility in in vitro procedures. *Livestock Science* 151, 198-202, 2013.

- STERN, M. D., BACH, A., CALSAMIGLIA, S. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *Journal of Animal Science* 75, 2256-2276, 1997.
- SUKSOMBAT, W., MERNKRATHOKE, P. Feeding of whole sugar cane to dairy cattle during the dry season. *Asian-Aust. Journal of Animal Science*, v. 18, n. 3, p. 345-349, 2005.
- TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*, v.18, p.104-111, 1963.
- VALADARES FILHO, S. C., MARCONDES, M. I., CHIZZOTTI, M. L, PAULINO, P. V. R. Nutrient Requirements of Zebu Beef Cattle – BR-CORTE, second edition, Viçosa/UFV, Suprema Gráfica Ltda., p. 193, 2010. Disponível em: <http://www.brcorte.com.br/br>.
- WALKER, D. M. The in vitro digestion of roughage dry matter. *The Journal of Agricultural Science*, v. 53, n. 2, p. 192-197, 1959.
- ZINN, R. A. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. v. 68, p. 767-775. 2009.