

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Digestibilidade aparente e parâmetros ruminais em  
ovinos Santa Inês alimentados com silagem de milho  
inoculada com *Lactobacillus plantarum* e *Bacillus  
subtilis* com duas relações de volumoso:concentrado**

**Luana Gabrielle de Oliveira Jorge**

Zootecnista

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Digestibilidade aparente e parâmetros ruminais em ovinos Santa Inês alimentados com silagem de milho inoculada com *Lactobacillus plantarum* e *Bacillus subtilis* com duas relações de volumoso:concentrado**

**Luana Gabrielle de Oliveira Jorge**

**Orientador: Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros**

**Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Ruggieri**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias– UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: DIGESTIBILIDADE APARENTE E PARÂMETROS RUMINAIS EM OVINOS  
SANTA INÊS ALIMENTADOS COM SILAGEM DE MILHO INOCULADA COM  
*Lactobacillus plantarum* E *Bacillus subtilis* COM DUAS RE-  
LAÇÕES DE VOLUMOSO:CONCENTRADO

AUTORA: LUANA GABRIELLE DE OLIVEIRA JORGE

ORIENTADOR: EUCLIDES BRAGA MALHEIROS

COORIENTADORA: ANA CLÁUDIA RUGGIERI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ZOOTECNIA, pela  
Comissão Examinadora:



Prof. Dr. EUCLIDES BRAGA MALHEIROS  
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. ANTONIO CARLOS HOMEM JUNIOR  
FATEC / Faculdade de Tecnologia do Estado de São Paulo - Jaboticabal/SP



Pós-doutoranda JULIANA DUARTE MESSANA  
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 04 de novembro de 2016.

J82d Jorge, Luana Gabrielle de Oliveira  
Digestibilidade aparente e parâmetros ruminais em ovinos Santa Inês alimentados com silagem de milho inoculada com *Lactobacillus plantarum* e *Bacillus subtilis* com duas relações de volumoso : concentrado / Luana Gabrielle de Oliveira Jorge. -- Jaboticabal, 2016 x, 78 p.; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016  
Orientador: Euclides Braga Malheiros  
Coorientadora: Ana Cláudia Ruggieri  
Banca examinadora: Antônio Carlos Homem Junior, Juliana Duarte Messana  
Bibliografia

1. Conservação de forragem. 2. Inoculantes microbianos. 3. Digestibilidade. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.085.52:636.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**Luana Gabrielle de Oliveira Jorge-** Nascida na cidade de São Paulo-SP, em 31 de Dezembro de 1987. Ingressou em Fevereiro de 2007 no curso de Zootecnia na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Foi bolsista de iniciação científica CNPq no período de 2008 a 2009. Graduou-se em Zootecnia em março de 2012. Foi bolsista FAPESP (Treinamento Técnico-TT3) no período de Agosto de 2012 a Dezembro de 2013. Iniciou o curso de pós-graduação em Zootecnia em Março de 2014, em nível de mestrado (bolsista CAPES) na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal.

## DEDICO

A Deus por iluminar meu caminho e me dar forças nos momentos de dificuldades.

*“E guardemos a certeza pelas próprias dificuldades já superadas que não há mal que dure para sempre”.*

*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei. Não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito”.*

*“Tudo que é seu encontrará uma maneira de chegar até você”.*

CHICO XAVIER

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por estar presente em todos os momentos difíceis.

Em especial, agradeço a minha família: Rogério (Pai), Draúcia (Mãe), Alfredo (Irmão).

A Milena (Rampera), por ter me incentivado e me ajudado sempre quando precisei.

Ao Prof. Dr. Ricardo Reis por possibilitar a entrada na pós graduação.

Ao Prof. DR. Euclides Braga Malheiros por possibilitar a conclusão desse projeto junto com minha Co-Orientadora Ana Claudia Ruggiero.

As minhas colegas acadêmicas e amigas Uly Bragiato, Roberta Valença, Nomaíaci (Noni) e Amanda (Inalapum).

As meninas da Rep. Boazona, pela convivência e aprendizado.

## SÚMARIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Processo Fermentativo da Silagem de Milho.....	2
2.2 Inoculantes Microbianos na Silagem.....	4
2.3 Dietas e Resposta Animal.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Construção dos Silos Tipo Superfície.....	17
3.2 Avaliação do Consumo e da Digestibilidade Aparente.....	19
3.3 Parâmetros Ruminais.....	22
3.4 Análises Estatísticas.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Dieta Fornecida.....	23
4.2 Digestibilidade Animal.....	25
4.3 Parâmetros Ruminais.....	28
5. CONCLUSÕES.....	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34



**Digestibilidade aparente e parâmetros ruminais em ovinos Santa Inês alimentados com silagem de milho inoculada com *Lactobacillus plantarum* e *Bacillus subtilis* com duas relações de volumoso:concentrado**

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos das dietas a base de silagem de milho inoculada ou não (controle) com *Lactobacillus plantarum* (LP) e *Bacillus subtilis* (BS) associada a duas proporções de concentrado (60:40 e 40:60) sobre a digestibilidade e parâmetros ruminais de ovinos (Santa Inês). A forragem foi inoculada com *Lactobacillus plantarum* e *Bacillus subtilis* ou mantida sem inoculação (tratamento controle). Foram utilizados oito ovinos, fistulados em um duplo quadrado latino (4 x 4), com duração de 16 dias cada período. O maior consumo de FDN e FDA ( $P < 0,05$ ) foram observados nos animais que receberam maior proporção de volumoso na dieta (60% de silagem) com média de 0,35 Kg/dia para FDN e 0,16 Kg/dia para FDA. Foi observado maior digestibilidade da FDN ( $P < 0,05$ ) nos animais que consumiram maior proporção de volumoso:concentrado (média= 45,58%) na dieta. Foram encontrados menores valores de pH ( $P < 0,05$ ) no líquido ruminal dos ovinos alimentados com maior proporção de concentrado (60%), nos tempos 0 e 3 horas após a alimentação. Valores maiores de N-NH<sub>3</sub> ( $P < 0,05$ ) foram encontrados no líquido ruminal dos animais alimentados com silagem controle. As concentrações dos principais AGCC (acético, propiônico e butírico) apresentaram variação no tempo ( $P < 0,05$ ) com maiores valores nos líquidos ruminais após 3 horas da alimentação nas dietas com maior proporção de concentrado (60%). Notamos maiores valores de ácido acético e ácido propiônico ( $P < 0,05$ ) após 9 horas da alimentação nos tratamentos com silagem controle. A aplicação de inoculante (*L. plantarum* e *B. subtilis*) na ensilagem de milho e as relações volumos:concentrado (60:40 e 40:60) adotadas não promoveram benefícios na digestibilidade e nos parâmetros ruminais dos ovinos.

**Palavras-Chave:** Conservação de forragem, inoculantes bacterianos, parâmetros ruminais.

**Apparent and ruminal digestibility in Santa Inês sheep fed corn serum inoculated with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* with two ratios of concentrate: concentrate.**

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the effects of diets based on inoculated or non - inoculated (control) silage with *Lactobacillus plantarum* (LP) and *Bacillus subtilis* (BS) associated with two concentrate ratios (60:40 and 40:60) on digestibility and ruminations of sheep (Santa Inês). Forage was inoculated with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* or maintained untreated. Eight sheep were used, fistulated in a double Latin square (4 x 4), with duration of 16 days each period. The highest intake of NDF and FDA ( $P < 0.05$ ) was observed in the animals that received the highest proportion of dietary bulk (60% silage) with a mean of 0.35 kg / diameter for NDF and 0.16 kg / day For FDA. The highest digestibility of NDF ( $P < 0.05$ ) was observed in the animals that consumed the highest proportion of roughage: concentrate (mean = 45.58%) in the diet. Lower values of pH ( $P < 0.05$ ) were found when there was no rumen liquid from sheep fed a higher proportion of concentrate at 0 and 3 hours after feeding. Larger values of N-NH<sub>3</sub> ( $P < 0.05$ ) were found in the ruminal fluid of the animals fed with control silage. Concentrations of the major AGCC (acetic, propionic and butyric) showed a variation in time ( $P < 0.05$ ) with higher values in ruminal liquids after 3 hours of feeding with diets with higher concentrations (60%). We observed higher values of acetic acid and propionic acid ( $P < 0.05$ ) after 9 hours of feed with silage treatment. The application of inoculant (*L. plantarum* and *B. subtilis*) to maize silage and the voluminous: concentrate (60:40 and 40:60) ratios adopted did not promote benefits in the digestibility and rumen of sheep.

**Key words:** Forage conservation, bacterial inoculants, ruminal parameters.

## 1. INTRODUÇÃO

É comum a utilização de aditivos químicos ou inoculantes microbianos, com o intuito de melhorar o valor nutricional da silagem. Eles melhoram a fermentação (maior relação ácido láctico/acético), diminuindo a proteólise e a desaminação da proteína da forragem, propiciando o uso mais eficiente dos carboidratos solúveis e, em consequência, maior retenção de nutrientes na silagem (HENDERSON, 1993).

Segundo Kung Jr. (2008), alguns fatores influenciam no processo de fermentação da silagem, que ocorre de maneira natural em condições anaeróbicas. A fermentação rápida está associada ao número e tipo de bactérias ácido lácticas (BAL) presentes na planta e também a outros fatores como teor de matéria seca (MS), capacidade tamponante da cultura e conteúdo de açúcares fermentáveis disponíveis.

Desta forma, o *Lactobacillus plantarum* (bactéria heterofermentativa facultativa) tem sido a principal BAL utilizada com o propósito de reduzir o pH rapidamente devido à maior produção de ácido láctico e, com isso, inibir alguns microrganismos indesejáveis ao processo de fermentação (FILYA, 2003) como as leveduras e bactérias do gênero *Clostridium* (KUNG JR., 2000; FILYA, 2003). No entanto, os produtos gerados durante a fermentação das silagens pela adição de *L. plantarum* podem provocar menor estabilidade quando expostas ao ar, comparadas às não inoculadas (PAHLOW et al., 2003).

Como uma alternativa para melhorar a estabilidade aeróbia da silagem é o uso do *Bacillus subtilis*, segundo Segundo Katz e Demain, (1977) este microrganismo tem sido utilizado no controle da deterioração aeróbia de silagens e tem apresentado resultados satisfatórios, pois produz grande número de substâncias antimicrobianas incluindo antibióticos e bacteriocinas (peptídeos com ação antimicrobiana) favoráveis no controle de microrganismos deterioradores após abertura dos silos. Além disso, é eficiente como probiótico na alimentação animal (WEINBERG e MUCK, 1996).

A relação volumoso: concentrado também é um ponto importante nas dietas de ruminantes alimentados com silagem de milho e terminados em confinamento. Por meio da variação da relação volumoso: concentrado é possível alterar processos fermentativos no rúmen, podendo melhorar a

eficiência de utilização da silagem pelo animal, assim como da dieta (BASSO et al., 2014).

Assim, objetivou-se nessa pesquisa avaliar os efeitos da silagem de milho inoculada (*L. plantarum* e *B. subtilis*) e a relação V:C da dieta na digestibilidade e os parâmetros fermentativos de ovinos Santa Inês.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Processo Fermentativo da Silagem de Milho**

A estacionalidade (outono-inverno) quantitativa e qualitativa das forragens em países situados entre os trópicos resulta em baixo desempenho animal. Neste período, alternativas como a conservação de forrageiras na forma de silagem são interessantes para manter o desempenho dos animais.

Silveira (2009) destaca que é de fundamental importância o conhecimento da qualidade nutricional da forragem ensilada, pois permite o planejamento nutricional possibilitando a formulação de dietas equilibradas.

Segundo Jobim et al. (2007), as forragens conservadas podem ter seu valor alimentício alterado, dependendo dos procedimentos utilizados para a sua produção e conservação, e dos fenômenos bioquímicos e microbiológicos que ocorrem no processo de ensilagem. Quando a silagem é bem preparada, seu valor nutritivo é semelhante ao da forragem verde, sendo assim, mantém sua qualidade original (CARDOSO; SILVA, 1995).

No estudo qualitativo das silagens produzidas, deve-se avaliar a resposta animal em virtude do consumo deste volumoso, o qual está diretamente relacionado com o padrão fermentativo e composição química da forragem (JOBIM; PEREIRA; SANTOS, 2005).

Costa et al. (2001) descreveram que os fatores determinantes no padrão de fermentação durante a ensilagem estão relacionados a aspectos inerentes à planta forrageira (teor de umidade, teor de carboidratos solúveis e poder tampão) e aos fatores passíveis de alteração, como estabelecer o ponto ideal de colheita da forragem, tamanho da partícula, rápido enchimento do silo, compactação adequada para expulsão de oxigênio, tipo de silo, vedação adequada e eficiência de drenagem de efluentes.

No processo fermentativo a utilização dos açúcares pelas BAL (bactérias ácido lácticas) homofermentativas permitem a conversão de um mol de hexose

a dois mols de ácido láctico (McDONALD; HENDERSON; HERON,1991), diminuindo as perdas por CO<sub>2</sub> que ocorrem durante a fermentação anaeróbica. Um ambiente anaeróbico é a única maneira de evitar a multiplicação de leveduras, fungos filamentosos e bactérias aeróbicas que prejudicam a silagem (MUCK, 2010).

A alta taxa de fermentação do tipo homolática no processo fermentativo é desejada, pois permite rápida produção de ácido láctico, com conseqüente diminuição do pH, permitindo alta recuperação de MS e energia (MUCK; MOSER; PITT, 2003). As forrageiras com alto teor de carboidratos solúveis são consideradas as melhores para ensilagem, sendo o caso do milho e do sorgo (CARDOSO; SILVA, 1995).

Entre as principais forrageiras destinadas ao processo de ensilagem, o milho possui papel de destaque por apresentar características desejáveis para a fermentação anaeróbica. Nussio et al. (2001) relataram que as vantagens da cultura do milho para ensilagem devem-se ao fato de sua composição bromatológica preencher os requisitos para confecção de uma silagem ideal como: teor de matéria seca entre 30% a 35%, pois a ensilagem de materiais mais úmidos diminui as perdas no campo, porém, prejudica a fermentação (Reis et al., 2008), os teores de carboidratos solúveis acima de 3% na matéria verde e baixo poder tampão, características essas que propiciam fermentação láctica, que é considerada ideal no processo de conservação.

De acordo com Evangelista et al. (2004), o pH e a umidade do ambiente são os principais fatores de diminuição do crescimento clostridiano. O desenvolvimento dos clostrídios é restringido quando a forragem apresenta teores de MS superiores a 30% e pH inferior a 4,2 (LEINESPERGER e PITT, 1987).

Outro ponto importante é a escolha do cultivar, pois há variação em sua produção de grãos e massa seca, proporção de grãos e boa qualidade da fração verde (CRUZ e TEIXEIRA FILHO, 2001).

Assim, para confecção de uma silagem de qualidade, além dos fatores intrínsecos à planta, outros fatores influenciam no padrão fermentativo como ponto de colheita em função do teor de MS e de açúcares solúveis, bem como a deposição de amido no grão de milho (enchimento do grão atinge entre 50 e 60% da linha do leite); o tamanho da partícula picada (5 a 15mm); rápido

enchimento do silo; compactação adequada para expulsão de oxigênio; tipo de silo; vedação e a eficiência de drenagem de efluentes (PAZIANI; CAMPOS, 2015).

A planta de milho apresenta dois componentes distintos: a fração vegetativa, composta basicamente de carboidratos estruturais, e a fração granífera, representada principalmente pelo amido do endosperma (ZOPOLLATTO e RECO 2009), ou seja, apresenta flexibilidade quanto ao seu uso, podendo-se fazer silagem de planta inteira ou somente dos grãos (BERNADES; MORAIS; SILVA, 2012).

Segundo McDonald et al. (1991), as alterações na composição das silagens são acompanhadas pelo aumento do pH, da temperatura e da concentração de nitrogênio amoniacal. Mühlbach (1999) relata que silagens de milho com qualidade adequada para alimentação de ruminantes devem apresentar pH abaixo de 4,0 e produção de nitrogênio amoniacal não superior a 10% do nitrogênio total para não ocasionar problemas na redução da palatabilidade e no consumo voluntário.

Portanto, segundo Neumann (2006), a silagem de milho é uma alternativa de alimento volumoso fundamental na cadeia produtiva intensiva pelos índices de produtividade da cultura, da estabilidade de produção, do valor nutritivo e da concentração de energia. No entanto, a silagem de milho é, particularmente, suscetível à deterioração aeróbica, principalmente em ambientes de clima quente (ASHBELL et al., 2002; BERNARDES; ADESOGAN, 2012). Assim, uma maneira de se evitar perdas durante todo o processo (fermentação e pós abertura do silo) é utilização de inoculantes microbianos.

## **2.2 Inoculantes Microbianos na Silagem**

Durante o processo de ensilagem podem ser adicionadas substâncias, denominadas aditivos, com a finalidade de melhorar a fermentação láctica, inibir a fermentação secundária (resultando em perdas de energia com a formação de CO<sub>2</sub>, etanol e ácido acético), propiciar condições que favoreçam a atividade de microrganismos desejáveis (BAL) e promover a conservação do valor nutritivo (NETO et al., 2009). Assim, o uso de aditivos na ensilagem aparece como uma opção para melhorar o processo de fermentação e na estabilidade

aeróbica, preservando o valor nutritivo da forragem, diminuindo perdas durante a fermentação e no pós abertura do silo.

A probabilidade de encontrar resultados positivos com o uso de inoculantes microbianos é maior quando a planta ensilada não apresenta características favoráveis à ensilagem (teor de MS, carboidratos solúveis e poder tampão), e quando ocorrem falhas no processo de ensilagem ou de retirada da forragem após a abertura dos silos (JUNGES, 2010)

O interesse por aditivos classificados como produtos estimulantes da fermentação da silagem, contendo enzimas e culturas de bactérias específicas, vem aumentando (CORRÊA e POTT, 2007). No Brasil, foi estimado que 27,7% dos produtores aplicam aditivos nas ensilagens (BERNARDES e REGO, 2014).

Segundo Henderson (1993), os aditivos contribuem para a redução da proteólise enzimática, ocorrida pela rápida queda do pH no silo, o que beneficia a produção de grandes quantidades de ácido láctico, representando a possibilidade de menores perdas tanto de matéria seca quanto de valor nutricional. Para que ocorra uma diminuição suficiente nos valores de pH, com consequente estabilidade da silagem, são necessárias populações superiores a  $10^4$  UFC de bactérias lácticas por grama de forragem (MUCK, 2010).

O intuito do uso de aditivos microbianos é assegurar que bactérias lácticas dominem a fermentação, derivando em uma silagem bem conservada. Pois o uso de inoculantes em silagens dificulta a multiplicação de micro-organismos anaeróbios indesejáveis, como enterobactérias e clostrídios (ÁVILA et al., 2010), além de melhorar a qualidade da fermentação por intermédio do rápido crescimento de BAL homofermentativas, as quais poderão competir com a microbiota epífita existente na forragem (SUCU; FILYA, 2006).

Pontos positivos são observados quando uma silagem é produzida com a adição de inoculante microbiano, diferente das silagens não inoculadas. Tais pontos são a melhora da palatabilidade, com decorrência na melhora da fermentação e da digestibilidade das fibras, diminuição das perdas físicas na superfície e laterais do silo, facilitando o transporte, armazenamento e uso do produto (COAN, 2005).

Segundo Moon (1983), grande parte das perdas que ocorrem durante o processo fermentativo é devido à presença de leveduras, entretanto, esta pode ser inibida pelo efeito sinérgico existente entre o ácido láctico (produzido em

quantidade suficiente para baixar o pH até 4,0) e o ácido acético, desta forma, reduzir a população de leveduras presente nos silos.

As bactérias ácido-láticas (BAL) possuem a capacidade de produzir ácido láctico como produto primário da fermentação de carboidratos. São classificadas em homofermativas e heterofermentativas (SIQUEIRA; BERNARDES; REIS 2013). As BALs são classificadas em dois grupos com base nos produtos de fermentação da glicose, como: homofermentativa (1ª Geração de inoculantes de silagem) conseguem produzir 2 moles de ácido láctico a partir de uma molécula de glicose; heterofermentativo (2ª Geração de inoculantes de silagem) conseguem produzir uma molécula de ácido láctico, uma molécula de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e, ou uma molécula de etanol ou uma molécula de ácido acético a partir da glicose (MUCK, 2010).

Na verdade, três grupos de BAL foram considerados, sendo: *homofermentativo obrigatório*, pois, são incapazes de fermentar pentoses na falta de fosfoquetolase; *heterofermentativo facultativos* são capazes de fermentar hexoses semelhantes aos homofermentativos obrigatórios, mas são capazes de fermentar pentoses também; *heterofermentativo obrigatório* são capazes de fermentar hexoses em vários produtos (HOLZER et al., 2003), ocorrendo perda de energia.

Kung Jr. (2009) relata que o *L. plantarum* fermenta hexoses e pentoses em ácido láctico e ácido acético, sendo o ácido láctico o principal deles, pois é o produto das duas fermentações, já o acético é produto apenas da fermentação das pentoses. Entretanto, os produtos gerados durante a fermentação das silagens pela adição de *L. plantarum* podem provocar sua menor estabilidade quando expostas ao ar, comparadas às não inoculadas (PAHLOW et al., 2003), em virtude da elevada concentração de lactato (WEINBERG et al., 1993) e açúcares residuais.

Segundo Woolford (1990), a deterioração da silagem, quando exposta ao ar, é inevitável e pode resultar em perda substancial de matéria seca. O mesmo autor afirma que a deterioração da silagem também é sempre acompanhada de perdas de açúcares residuais e, aumento na produção de nitrogênio amoniacal e dióxido de carbono, o que compromete sobremaneira o valor nutritivo das silagens. Esses eventos ocorrem principalmente em silagens resultantes de fermentação desejável, cuja marca é a elevada concentração de



lactato (MUCK, 2010), como exemplo, a cultura do milho. Desta forma o uso da classe de aditivos controladores da deterioração aeróbica vem crescendo (MUCK, 2012).

As espécies e cepas do gênero *Bacillus*, são também utilizados como aditivos no processo de ensilagem, com o propósito de diminuir a deterioração aeróbia. Os *Bacillus* são peptídeos ativos contra bactérias gram-positivas. Produzem substâncias com ação antimicrobiana, inclusive antibióticos (LANNA FILHO et al., 2010).

De acordo com Todovora e Kozhuharova (2009), a espécie *Bacillus subtilis* é uma das mais importantes produtoras de metabólitos com atividade antifúngica e antibacteriana do gênero *Bacillus* e assim controlam desenvolvimento de leveduras e fungos filamentosos (MUCK et al., 1991).

As leveduras compreendem o grupo de microrganismos mais importante em relação à deterioração aeróbia das silagens. Estas são divididas em dois principais grupos fisiológicos: utilizadoras de ácidos orgânicos (*Candida*, *Endomycopsis*, *Hansenula* e *Pichia*) e utilizadoras de açúcares (*Torulopsis*) (WOOLFORD, 1990).

As leveduras provocam grande liberação de dióxido de carbono pelo metabolismo dos açúcares, resultando em perdas de MS, e ainda, podem consumir ácidos orgânicos provocando elevação do pH, o que permite o crescimento de fungos filamentosos durante a fase de utilização da silagem. Os fungos degradam uma ampla variedade de nutrientes incluindo os carboidratos estruturais (JOBIM e GONÇALVES, 2003).

Basso et al. (2012), avaliaram silagem de milho inoculada com *B. subtilis*, e notaram diminuição na taxa de leveduras no momento da abertura dos silos e após a exposição aeróbica. A ocorrência de leveduras, durante o período de exposição aeróbia, apresentou comportamento quadrático em resposta às doses de *B. subtilis*, ou seja, as maiores doses empregadas implicaram no decréscimo da população de leveduras, o que é positivo, pois esse grupo de microrganismos é o principal responsável pela deterioração das silagens após abertura (ASHBELL et al., 2002; WOOLFORD, 1990).

Basso et al. (2012), verificaram que até 4 dias de aerobiose o pH estava dentro da faixa considerável ideal (3,8 a 4,2) nos dois tratamentos (controle e inoculada com *B. subtilis*), para um adequado processo fermentativo em

silagem de milho (KUNG JR e SHAVER, 2001), no entanto após 12 dias de exposição todas as silagens (controle e inoculada com *B. subtilis*) tiveram um acréscimo nos valores de pH, assim a silagem inoculada com *B. subtilis* apresentou o menor valor (5,5), se comparada à silagem controle (6,73), o que estava associado a menor ocorrência de microrganismos deterioradores nessa silagem. Ou seja, Basso et al., 2012 concluíram que as silagens que apresentam maior estabilidade associada a menor ocorrência de leveduras e fungos, mantiveram por mais tempo as características nutritivas observadas na abertura.

Além do controle de fungos e leveduras o *B. subtilis* pode aumentar o valor nutritivo das silagens, pois as bacteriocinas, que podem ter ação antibiótica, quando o animal ingere a silagem inoculada com esse *Bacillus*. Portanto, estas bacteriocinas são proteínas bacterianas com ação antagonista sobre as outras bactérias (BARBOSA e TORRES, 2005).

*B. subtilis* pode apresentar também efeito probiótico. Conceitualmente, o efeito probiótico inclui a ação de microrganismos como promotores do crescimento (LILLY e STILLWELL, 1965), ou em outras palavras, "um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o animal hospedeiro melhorando o seu equilíbrio microbiano intestinal" (FULLER, 1989).

Embora o conceito original sobre probióticos seja baseado em benefícios que ocorrem pós-ruminação, certos probióticos podem até mesmo conferir vantagens no rúmen, como a melhoria da digestibilidade (McALLISTER et al., 2011).

O *B. subtilis* é um microrganismo transitório no trato gastrintestinal, não patogênico para os animais, capaz de formar esporos resistentes ao calor e frio e estocáveis sem refrigeração por longo período (SANDERS et al., 2003). A maior vantagem dos probióticos compostos por *Bacillus*, quando comparado com a bactéria ácido láctica, está na capacidade de esporular, com uma potencial vantagem que o esporo pode sobreviver o trânsito pelo estômago intacto (HOAL et al., 2000). Os esporos germinam quando chegam ao intestino, o que é necessário para a expressão da resposta animal ao probiótico (SANDERS et al., 2003).

Segundo Hoal et al. (2000), ingestão de quantidades significantes de *B. subtilis* restabelece a flora microbiana normal, principalmente após uso prolongado de antibióticos ou em condições de prevalência de diarreia.

A utilização de bactérias com capacidade probiótica, como aditivo de rações, por exemplo, o *B. subtilis*, têm apresentado progressos durante a última década, na sequência de um conjunto diversificado de trabalhos científicos nas áreas de taxonomia clássica e molecular, terapêutica, análise de diversidade genética, entre as espécies isoladas de um mesmo meio ou de meios diferentes, bem como os possíveis mecanismos de ação de cada espécie (REUTER, 1990).

### **2.3 Dietas e Resposta Animal**

Dietas contendo silagens inoculadas têm promovido aumentos no consumo de matéria seca e na digestibilidade de nutrientes, resultando em melhor utilização da energia (KUNG JR., 1996), podendo, inclusive, melhorar o desempenho animal (MUCK, 1993), ou seja, o uso de aditivos pode afetar, direta ou indiretamente, os componentes da parede celular e, em consequência, a ingestão e o valor alimentar da forragem (REIS e JOBIM, 2001).

De acordo com Weinberg et al. (2004), um fator positivo que poderia beneficiar os animais alimentados com silagens inoculadas, seria um possível aumento no ganho de peso, devido à melhora na digestão da fibra por uma interação entre microrganismos da silagem e do rúmen, ou até mesmo por um efeito probiótico do inoculante.

Weinberg, Muck e Weimer 2003, sugerem duas hipóteses para que BAL presentes na silagem aumentem o desempenho animal: a primeira é que algumas cepas específicas de BAL interagem com microrganismos ruminais para aumentar a funcionalidade ruminal e desempenho animal e, desta forma, agem como probióticos; a segunda está relacionada à inibição da deterioração da silagem pela inoculação com BAL que produzem algumas variedades de substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas (MULLER; BEHRENDT; MULLER, 1996), que controlam o desenvolvimento de alguns microrganismos prejudiciais ao processo de ensilagem como, por exemplo, leveduras e fungos,

pois Kung Jr 2010 descreve que a ingestão de silagens é reduzida, quando a contagem de leveduras ultrapassa  $10^6$  UFC/g de forragem.

Os efeitos benéficos esperados pela inoculação em silagens de milho nem sempre são observados na prática, (melhora do desempenho animal) isto pode estar associado a diversos fatores. Segundo Muck (1996) e Knicky (2005), o principal deles é a sobrevivência das bactérias lácticas dos inoculantes, o que estaria associado, principalmente, com o número de bactérias lácticas da microbiota, com a quantidade de carboidratos solúveis e o teor de matéria seca da planta ensilada.

As alterações ocorridas na digestibilidade da MS e fibra em detergente neutro (FDN) em silagens devido ao uso de BAL podem interferir no perfil microbiano do rúmen, alterando a eficiência de utilização do alimento (WEINBERG et al., 2007).

Segundo Keady et al. (1994), à inoculação de silagem de capim com *Lactobacillus plantarum* resultou na maximização de desempenho dos animais alimentados comparativamente ao uso de uma silagem controle. Keady e Steen (1994) e Keady et al. (1994) em pesquisas conduzidas na Irlanda do Norte, também observaram que a inoculação de silagem de capim com *L. plantarum* cepa “MTD1” resultou em aumento no desempenho dos animais alimentados com esta silagem (11,0 kg a mais em ganho de carcaça), comparativamente a uma silagem controle. Moran e Owen (1994) revisaram 14 trabalhos que avaliaram a inoculação de silagens com *L. plantarum* cepa “MTD1” e reportaram aumento no consumo de MS (4,8%) e produção de leite (4,6%) em animais alimentados com as silagens inoculadas.

Gorgulu et al. (2003) avaliaram o efeito do probiótico sobre o consumo de matéria seca de concentrado e concluíram que os animais tratados com probiótico apresentaram maior consumo médio diário em relação ao grupo controle. Em relação ao ganho de peso diário (kg/dia) dos bezerros o efeito foi significativo somente a partir do vigésimo oitavo dia de avaliação, sendo que o tratamento com maior quantidade de *B. subtilis* T4 (controle + 4g *Bacillus subtilis*) apresentou maior valor para esta variável, seguido pelos tratamentos T3 (controle + 2g *Bacillus subtilis*) e T2 (controle + 1g *Bacillus subtilis*). O tratamento T1 (controle) apresentou o menor valor de ganho de peso diário entre os tratamentos testados.

Assim, a avaliação de aditivos adequados ao processo de ensilagem de milho é importante, pois permite aumentar a eficiência da conservação, garantindo a preservação e qualidade da forragem (REIS e JOBIM, 2001).

Outro ponto importante que pode afetar diretamente o consumo e a digestibilidade é a relação de volumoso e concentrado na dieta. Segundo Mertens (1994), o consumo de alimentos é em função da espécie animal, do tipo alimento, da disponibilidade de alimento, bem como dos fatores do meio ambiente como temperatura e duração do dia.

Dietas com alto teor de concentrado, ou seja, com elevada densidade energética, podem causar saciedade e assim limitar o consumo. Por outro lado, os fatores físicos predominam no controle do consumo de dietas com alta proporção de volumoso, podendo inibir o consumo pelo volume ocupado pela dieta e pela capacidade anatômica do rúmen-retículo, restringindo a ingestão de energia e proteína, fatores nutricionais que mais limitam o crescimento microbiano (CLARK et al., 1992) contrariando Putrino et al. (2007) que ao trabalharem com novilhos Nelore alimentados com as relações V:C de 20:80, 40:60 e 60:40, utilizando a silagem de milho como fonte de volumoso, observaram um comportamento quadrático com consumo de MS máximo (%PV) estimado com a relação V:C de 60:40.

A utilização de alimentos volumosos é importante nas dietas de ruminantes, pois a fibra é essencial para estimular a mastigação e ruminação (VAN SOEST, 1994). Segundo Moreno et al. (2010) e Cruz et al. (2011), a ingestão e a digestibilidade dos nutrientes podem estar correlacionadas de maneira positiva ou negativa, o que depende da qualidade da dieta, comumente referidos como efeitos associativos. Normalmente, a correlação entre a ingestão e a digestibilidade dos nutrientes é positiva em dietas com elevada proporção de volumoso de baixa qualidade, uma vez que o volume ocupado pela fração fibrosa de baixa digestibilidade reduz a ingestão de matéria seca (VAN SOEST, 1994).

Segundo Valadares Filho et al. (1987), carboidratos não-estruturais possuem coeficiente de digestibilidade aparente total acima de 90% e carboidratos estruturais próximos de 50%, o que reflete na menor digestão da MS nas dietas com maiores teores de carboidratos estruturais. No entanto, devido às alterações na fermentação e a composição química das silagens,

alguns estudos tem constatado aumento no consumo de matéria seca e na digestibilidade de nutrientes, resultando em melhor utilização da energia e aumento no desempenho dos animais (BASSO et al., 2014; KEADY et al., 1994).

A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) representa a fração de carboidratos estruturais dos alimentos (parede celular) e tem sido relacionada à regulação da ingestão de alimentos, taxa de passagem e atividade mastigatória dos ruminantes. Dietas que não estimulam adequadamente a mastigação reduzem a produção de saliva, resultando em diminuição do pH ruminal e, conseqüente redução da digestibilidade da fibra (MAEDA et al., 2007).

Segundo Van Soest, 1994 alimentos concentrados e fenos finamente triturados ou peletizados reduzem o tempo de ruminação, enquanto volumosos com elevado teor de parede celular tendem a aumentar o tempo de ruminação, ou seja, o fornecimento de dietas muito fibrosas aos ovinos pode diminuir a velocidade de passagem, reduzindo, assim, o consumo e o ganho de peso (GREENHALGH, 1982).

As respostas obtidas em relação ao padrão comportamental do animal são utilizadas como indicadores das características físicas e químicas de volumoso (LEE et al., 2004; 2008; MIRANDA et al., 1999).

No comportamento ingestivo de ovinos, a ingestão de forragens depende do seu valor nutricional, palatabilidade e tamanho da partícula, sendo a fibra em detergente neutro (FDN) o primeiro fator que afeta esse comportamento, interferindo diretamente no funcionamento ruminal (YANG et al., 2001) pois segundo Mertens (1997), o FDN estimula a atividade mastigatória reduzindo a produção de ácidos graxos (AGCC).

A ingestão é limitada pela ocupação de espaço no trato gastrointestinal, alimentos com alto teor de FDN (volumosos) com isso, a expressão do potencial genético do animal para produção (CARVALHO, et al., 2006), por outro lado, quando se utilizam rações com baixa proporção de FDN e alto teor de energia, a demanda energética do animal pode ser suprida em níveis menores de ingestão (MERTENS, 1994; CARDOSO et al., 2006). No entanto, Moreno et al. (2010) avaliaram diferentes proporções de volumoso e concentrado na dieta de cordeiros e observaram que o consumo de MS (867 g dia<sup>-1</sup> e 79,86 g kg<sup>0,75</sup> <sup>-1</sup>) foi máximo (P<0,05) para as dietas com 60% de

concentrado. Os mesmos autores, não observaram ( $P>0,05$ ) diferenças no consumo de CHT e CNF em cordeiros alimentados com teores variando de 40 a 60% de concentrado, com valores médios de 591,84 g dia<sup>-1</sup> e 471,43 g dia<sup>-1</sup>, respectivamente.

A taxa de crescimento e a ação digestiva, de cada espécie de bactérias ruminais, podem variar com as condições ruminais, dependendo do tipo de alimentação. Segundo Weinberg et al. (2007) a inclusão de amido no líquido ruminal pode modificar o modo de ação das bactérias ácido-láticas (BAL), em que estas interagem com os microrganismos do rúmen e competem por substratos neste ambiente, podendo modificar o perfil de fermentação ruminal.

O efeito da inclusão de concentrado na dieta total de animais ruminantes sobre o consumo tem sido estudado por diversos autores (MAEDA et al., 2007; MORENO et al., 2010) e segundo Zambom et al. (2005), a resposta animal aos níveis de concentrado dietéticos tem sido curvilínea.

Ao aumentar a disponibilidade de carboidratos fermentáveis, o crescimento microbiano pode ser estimulado (SANTOS; MENDONÇA, 2011). No entanto, a proliferação de bactérias celulolíticas está diretamente correlacionada com a quantidade de fibra na dieta, e a substituição da fibra por carboidratos rapidamente fermentáveis pode influenciar estes microrganismos e alterar a dinâmica do ecossistema ruminal (TAJIMA et al., 2001; KLIEVE et al., 2003).

Dietas com alta proporção de grãos podem reduzir ou eliminar completamente as populações de protozoários ciliados, e essa redução ou eliminação pode ser atribuída à queda do pH ruminal e a rápida taxa de passagem (NAGAJARA; TOWNE; BEHARKA, 1992). Assim, o fornecimento de maiores quantidades de concentrados aumenta o risco de ocorrência de distúrbios metabólicos. Podem também resultar em menor ingestão total de MS, uma vez que as exigências energéticas do animal são supridas em níveis mais baixos de ingestão (VAN SOEST e MERTENS, 1994).

A utilização de altos teores de concentrados na dieta, apresentam fermentação ruminal sub-ótima, aumentando os riscos de acidose, o que põe em risco o desempenho e a saúde animal (MERTENS, 1996). Entretanto, permite aumentar a concentração de nutrientes nas dietas, otimizando o uso de raças com alto potencial para ganho de peso (CARVALHO et al., 2007).

Dietas baixas em fibra e que tendem a ter altas taxas de digestão e produção de AGCC geram um pH ruminal baixo (<6,0), que exerce efeitos negativos nos microrganismos celulolíticos do rúmen, diminuindo a população de bactérias amilolíticas (MARTIN et al., 2002; NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007). Assim, dietas com alta proporção de concentrado além de influenciar a população de microrganismos ruminais, podem também diminuir a digestibilidade da dieta (OWENS et al., 1998) e o consumo de alimento (STOCK et al., 1995).

As bactérias ruminais são vitais para a saúde e a produtividade do ruminante (RUSSELL, 2002; WELKIE et al., 2010). A microflora ruminal é altamente sensível às alterações na idade, dieta e saúde do animal hospedeiro (KOCHERGINSKAYA et al., 2001; LI et al., 2009). Estudos mostraram que em condições ruminais ácidas (<6,0) pode ocorrer redução na atividade de bactérias fibrolíticas (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *Ruminococcus flavefaciens*), fundamentais na degradação da fibra, com consequente aumento na atividade das bactérias amilolíticas (RUSSELL, 2002; KLIEVE et al., 2003; NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

As diferentes proporções de ingredientes volumosos e concentrados, a frequência de alimentação e a sincronização das fontes de proteína e carboidratos da dieta de ruminantes podem alterar o processo de fermentação ruminal, as concentrações de ácidos graxos voláteis e de nitrogênio amoniacal do fluido ruminal, a flutuação do pH ruminal e a digestão da fibra (ZEOULA et al., 2006; MAEDA et al., 2007).

Schwartzkopf-Genswein et al. (2003) relataram que as variações na relação volumoso e concentrado (V:C) das dietas podem afetar as características de fermentação ruminal. Ocorrem mudanças no perfil de microrganismos após a alimentação devido a alterações no pH e a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), quando a relação V:C é alterada, por causa de uma grande variedade de substratos e tamanhos de partículas (VALDARES FILHO; PINA, 2011).

A diminuição do pH ruminal ocorre principalmente após a ingestão de alimentos, especialmente amido, devido à sua rápida taxa de degradação, em dietas com alta proporção de concentrados, e esta diminuição do pH ruminal



pode ser muito rápido e manter-se durante longos períodos de tempo (ØRSKOV, 1986).

Os AGCC produzidos juntamente com pequenas quantidades de outros compostos orgânicos (metano, dióxido de carbono, lactato e álcool) durante o processo de fermentação ruminal, também são fonte de energia para ruminantes (65 a 75% da energia metabolizável ingerida) (BERGMAN, 1990). Os ácidos acético, propiônico e butírico são os AGCC predominantes e são produzidos principalmente na degradação da celulose, hemicelulose, pectina, amidos e açúcares provenientes da dieta.

O aumento de concentrado na dieta pode influenciar a fermentação ruminal, onde seus benefícios biológicos podem ser classificados em aumento da eficiência do metabolismo de energia das bactérias ruminais e/ou do animal, alterando a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta produzidos no rúmen e diminuindo a produção de metano (PERRY et. al, 1976, RUSSELL et. al, 1989).

Em uma dieta com maior quantidade de volumoso, espera-se que ocorra um aumento na proporção de acetato e produção de gases no rúmen (principalmente metano e CO<sub>2</sub>). No entanto quando mudamos a dieta e fornecemos ao animal maior quantidade de concentrado, ocorre maior formação de propionato e butirato. Ou seja, a proporção de AGCC é influenciada pela dieta e população microbiana do rúmen, e comumente, a relação molar de acetato, propionato e butirato, varia de 75:15:10 a 40:40:20 (VALDARES FILHO; PINA, 2011).

Na síntese do acetato um maior número de moléculas de hidrogênio é disponibilizado para produção de metano (CH<sub>4</sub>). Em uma dieta composta por alimentos volumosos, há perdas de ordem de 10% da energia inicial, variando de 6 a 18% (OWENS e GOETSCH, 1993).

A disponibilidade ruminal de energia e nitrogênio são os fatores nutricionais que mais limitam o crescimento microbiano (CLARK et al., 1992). A energia para a síntese de proteína microbiana é oriunda principalmente dos carboidratos dietéticos cuja fonte pode afetar o crescimento microbiano. Se os carboidratos não estruturais estiverem em alta proporção na ração e o pH for mantido, a quantidade de microrganismos fermentadores deste substrato irá aumentar rapidamente, resultando em aumento da produção microbiana.

A concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) no rúmen é indispensável para o crescimento microbiano, desde que associada a fontes de energia (COELHO DA SILVA; LEÃO, 1979). Sua determinação permite o conhecimento do desbalanceamento na digestão da proteína, pois, quando há altas concentrações de amônia, pode ocorrer excesso de proteína dietética degradada no rúmen e/ou baixa concentração de carboidratos degradados no rúmen. Segundo Stern e Hoover (1979), 40 a 100% do nitrogênio microbiano podem ser derivados do N amoniacal. Morrison e Mackie (1996) relataram que mais de 80% das bactérias ruminais podem crescer tendo amônia como única fonte de nitrogênio.

A capacidade de fermentação da dieta varia de acordo com a concentração mínima de N-NH<sub>3</sub> necessária para manter máxima taxa de crescimento microbiano, associada a fontes de energia. Há variação na literatura sobre os valores das concentrações de N-NH<sub>3</sub> ruminal requeridos para atender o crescimento máximo dos microrganismos ruminais.

Van Soest (1994) citou como nível ótimo 10 mg de N-NH<sub>3</sub>/dL. Entretanto, este valor não deve ser considerado como um número fixo, uma vez que a capacidade de síntese de proteína e captação de amônia pelas bactérias depende da taxa de fermentação dos carboidratos, ou seja, segundo Mehrez, Ørskov e McDonald (1977) a concentração ideal de NH<sub>3</sub> no rúmen pode ser definida como aquela que permita a máxima taxa de fermentação ou máxima síntese de proteína microbiana por unidade de substrato fermentado.

Portanto, a natureza dos alimentos (volumosos e concentrados), bem como seus níveis de nutrientes, podem influenciar de maneira decisiva no comportamento alimentar dos animais, promovendo efeitos sobre o desempenho e produtividade.

Estudos para avaliação da eficiência do uso de diferentes relações volumoso:concentrado associado a silagem inoculada poderão contribuir para um melhor entendimento da digestibilidade e dos parâmetros ruminais de ovinos. Assim, objetivou-se nessa pesquisa avaliar a digestibilidade e os parâmetros ruminais de ovinos Santa Inês alimentados com silagem inoculada, associadas a duas relações de V:C (60:40 e 40:60) na dieta.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP). A FCAV está localizada a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste e, 595 metros de altitude, sendo o clima subtropical do tipo Cwa de acordo com a classificação de Köppen.

#### 3.1 Construção dos Silos Tipo Superfície

O híbrido de milho utilizado para confecção das silagens foi o 2B710 power core (Dow), sendo semeado em 18 de Dezembro de 2013 e colhido em 24 de Março de 2014. As plantas foram colhidas utilizando-se colhedora de forragem regulada para corte a 20 cm do solo e tamanho de partícula de 1 a 2 cm, quando os grãos apresentavam dois terços da linha do leite (33-35% de MS).

Foram construídos dois silos tipo superfície cada um com aproximadamente 20 toneladas de forragem. Em um dos silos o material foi inoculado com  $1 \times 10^5$  UFC de *Lactobacillus plantarum*, cepa Lallemand MA18/5U associado a  $1 \times 10^5$  UFC de *Bacillus subtilis* AT553098 cepa Fatec. O inoculante foi diluído em água destilada e pulverizado na forragem com auxílio de pulverizador costal (Tratamento Inoculada- TrI), mantendo-se a relação de 0,7L por tonelada de forragem. No outro silo a forragem recebeu a mesma quantidade de água do outro tratamento, mas sem adição de inoculante (Tratamento Controle- TrC).

Utilizou-se na compactação da forragem uma pá carregadeira (modelo Cterpillar 924H, 8.310 Kg), que espalhava a forragem no silo superfície em camadas pequenas (próximo a 30 cm), e realizava a compactação da mesma. A densidade das silagens foram de 600 Kg de MV/m<sup>3</sup>.

A lona utilizada na cobertura dos silos foi a dupla face com três camadas de polietileno de baixa densidade e espessura de 200 micras. Os silos permaneceram fechados durante 170 dias.

Para caracterização do material ensilado foram colhidas, durante o ensilamento, 20 amostras de cada tratamento (TrI e TrC), sendo 10 amostras levadas a estufa e, já secas, foram destinadas ao laboratório para análises bromatológicas. As outras 10 amostras frescas foram colocadas em sacos plásticos identificados e congeladas para obtenção do extrato aquoso.

A composição bromatológica da planta de milho ensilada está apresentada na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Composição bromatológica das plantas de milho (g/Kg MS) controle (TrC) e após a aplicação do *L. plantarum* e *B. subtilis* (TrI) no momento da ensilagem:

	Controle (TrC)	Inoculada (TrI)
Matéria Seca**	350,00	337,00
Matéria Mineral*	33,00	32,00
Extrato Etéreo*	15,50	16,80
Proteína Bruta*	76,70	73,20
Fibra em Detergente Neutro*	507,30	501,40
Fibra em Detergente Ácido*	229,10	230,10
Hemicelulose*	306,80	297,10
Celulose*	204,20	209,70
Lignina*	28,10	28,50
Carboidratos Totais*	871,00	878,40
Carboidratos não Fibrosos*	379,80	383,10
pH	4,96	3,82
N amoniacal***	3,92	3,62

\*(g/Kg MS)

\*\* (g/Kg)

\*\*\* (%N total)

As amostras secas foram levadas à estufa regulada a 55°C, por 72 horas, para obtenção da primeira matéria seca (MS), e processadas em moinho tipo “Willey” com peneiras contendo crivos de 1 mm. Posteriormente foi calculada a segunda MS após as amostras permanecerem por 16 horas em estufa a 105°C, enquanto a matéria mineral (MM) foi determinada após queima em mufla a 500°C por 5 horas (SILVA e QUEIROZ, 2002).

A proteína bruta (PB) foi avaliada de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (1990) pelo método de combustão de Dumas utilizando-se o aparelho Leco®, modelo F528. A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas usando o método de Van Soest, Robertson e Lewis (1991) em aparelho Ankom® 2000 Fiber Analyzer. Utilizou-se a  $\alpha$ -amilase termo-estável na determinação do FDN, porém sem adição de sulfito de sódio. Nas análises de FDN, estes valores foram corrigidos para proteína (FDN<sub>p</sub>). O extrato etéreo (EE) foi determinado de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (1996).

A energia bruta (EB) foi determinada por meio da bomba calorimétrica e a energia metabolizável (EM) foi a partir da energia digestível (ED) (SNIFFEN et al., 1992 e NRC, 2006) segundo equação  $EM = ED \times 0,82$ . A lignina da dieta foi mensurada após hidrólise em  $H_2SO_4$  a 72% do resíduo de FDA (VAN SOEST; ROBERTSON, 1985).

Os carboidratos totais (CHOT) e carboidratos não-fibrosos (CNF) foram calculados segundo metodologia da Universidade de Cornell (SNIFFEN et al., 1992):

$$CHOT = 100 - (PB + EE + MM)$$
$$CNF = 100 - [(FDN - FDNp) + PB + EE + MM]$$

onde:

FDNp = FDN corrigido para proteína.

Com as amostras congeladas da forragem (ensilagem) preparou-se um extrato aquoso segundo metodologia proposta por Kung Jr. et., (1984), para posteriormente determinação dos valores de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>). O pH foi determinado usando-se um peagometro modelo MA522 (Marconi®) e o N-NH<sub>3</sub> foi mensurado com destilação de 2 mL de cada amostra com adição de 5 mL de KOH 2N em aparelho tipo Kjeldhal. A amostra destilada era recebida em um recipiente contendo 10 mL de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2% até atingir volume final de 50 mL no recipiente, após atingir esse valor a amostra era titulada com HCL 0,005 N de acordo com técnica adaptada por Vieira (1980).

### **3.2 Avaliação do Consumo e da Digestibilidade Aparente**

O ensaio de consumo e digestibilidade foi conduzido no setor de Forragicultura da Unesp – Jaboticabal, no período de Novembro de 2014 a Janeiro de 2015. Oito ovinos da raça Santa Inês, castrados, canulados no rúmen, foram alojados em baias individuais, contendo comedouros e bebedouros.

As dietas foram compostas por volumoso, sendo silagem de milho inoculada ou não com *Lactobacillus plantarum* e *Bacillus subtilis* associadas a duas

relações de concentrado (**Tabela 2 e 3**). As dietas foram formuladas para atender as exigências de ganho de 250 g/dia de acordo com o NRC 2007.

**Tabela 2.** Composição percentual dos ingredientes das dietas a base de silagens de milho oferecidas aos ovinos.

Ingredientes*	% Volumoso	
	60%	40%
Silagem de milho	60,00	40,00
Milho moído	26,86	47,96
Farelo de soja	10,80	8,40
Núcleo mineral	1,54	2,44
Ureia	0,80	1,20
Total	100,00	100,00

\*Níveis de garantia: Ca = 120g; P = 40g; S = 121g; Na = 40g; Cu = 102mg; Mn = 820 mg; Zn = 1.050 mg; I = 133mg; Co = 07mg; Se = 4mg; F (máx.) = 167 mg; NNP= 57g; Vitamina A= 56mg; Vitamina D3= 5mg; Vitamina E=0,3mg.

**Tabela 3.** Composição bromatológica (g/Kg de MS) e energia bruta (Kcal/Kg) das dietas a base de silagens de milho oferecidas aos ovinos.

Item	% Volumoso			
	Controle		Inoculada	
	60%	40%	60%	40%
Composição química (g/kg MS)				
MS	551,38	667,60	540,64	660,44
MM	58,02	61,38	56,04	60,06
MO	947,66	944,72	949,4	945,88
EE	23,10	22,80	24,18	23,52
PB	151,46	151,40	151,04	151,12
FDN	319,64	242,92	325,52	246,84
FDA	153,32	109,80	153,62	110,00
CHOT	777,86	761,60	783,86	765,60
CNF	487,62	535,76	489,36	536,92
EB	18,50	17,80	18,44	17,76

\*MS = matéria seca; MM = matéria mineral; MO = matéria orgânica; EE = extrato etéreo; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; CHOT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; EB= energia bruta.

**Tabela 4.** Composição percentual dos ingredientes das dietas a base de silagens de milho oferecidas aos ovinos.

Ingredientes*	% Volumoso	
	60%	40%
Silagem de milho	60,00	40,00
Milho moído	26,86	47,96
Farelo de soja	10,80	8,40
Núcleo mineral	1,54	2,44
Ureia	0,80	1,20
Total	100,00	100,00

\*Níveis de garantia: Ca = 120g; P = 40g; S = 121g; Na = 40g; Cu = 102mg; Mn = 820 mg; Zn = 1.050 mg; I = 133mg; Co = 07mg; Se = 4mg; F (máx.) = 167 mg; NNP= 57g; Vitamina A= 56mg; Vitamina D3= 5mg; Vitamina E=0,3mg.

Foram conduzidos dois quadrados latinos, com oito animais, quatro dietas e quatro períodos experimentais (duração de 17 dias cada). Os dez primeiros dias foram destinados à adaptação dos animais à dieta, seguido de cinco dias para mensuração do consumo e da digestibilidade (11° ao 15° dia de cada período). As dietas foram fornecidas uma vez ao dia, às 7:30 horas, de forma a permitir consumo à vontade, admitindo 10 % de sobras.

O consumo foi regulado diariamente por meio da diferença entre a quantidade de alimento fornecido aos animais e a quantidade de alimento recusado (sobras). Durante o período experimental, foram realizadas amostragens das dietas (silagem e concentrado) e sobras. Das sobras diárias de cada animal foi obtida uma amostra composta. Todas as amostras (dieta e sobras) foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para as análises bromatológicas descritas anteriormente (Item 3.1).

A digestibilidade aparente total foi determinada por meio da coleta total de fezes de cada animal, sendo feitas por dia, período de 24 horas, duas pesagens de fezes, uma pela manhã e outra a noite.

Das amostras de fezes colhidas durante o período experimental, depois de pesadas, uma quantidade de aproximadamente 10% do peso total de coleta, foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados e armazenadas em congelador. Posteriormente foram pré-secas em estufa ventilada a 55°C por 72 horas e moídas em moinho de facas (peneira de 1 mm). As amostras de cada animal foram agrupadas por período, formando amostras compostas, sendo submetidas às análises laboratoriais bromatológicas descritas anteriormente (Item 3.1).

### 3.3 Parâmetros Ruminais

No 16º dia de cada período, foi coletado líquido ruminal dos animais antes do fornecimento do alimento (tempo 0) e após alimentação nos tempos: 3, 6, 9 e 12 horas para caracterização quanto ao pH, concentração de N-NH<sub>3</sub> e produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

Os valores de pH do fluido ruminal foram mensurados usando-se o peagometro modelo MA522 (Marconi®). Após determinação do pH, utilizou-se 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1) em cada 50 mL de líquido ruminal no intuito de cessar a atividade dos microrganismos, mantendo-se as amostras congeladas a -20°C. Após o descongelamento das amostras a concentração de N-NH<sub>3</sub> foi determinada com técnica adaptada de Vieira (1980), descrita anteriormente (Item 3.1). As concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram determinadas utilizando-se cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC2014) de acordo com Famme e Knudsen (1984).

### 3.4 Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi um duplo quadrado Latino 4x4 (2 Quadrados Latinos, 4 Animais dentro de cada Quadrado Latino, 4 Períodos e 4 Tratamentos), sendo os 4 tratamento num esquema fatorial 2 X 2 (2 tipos de silagem e 2 relações volumoso:concentrado). Os fatores: quadrado-latino, linhas e colunas foram considerados de efeitos aleatórios e o fator tratamento foi considerado de efeito fixo. As análises foram realizadas no Programa SAS (SAS®, Versão 9.2). O modelo matemático utilizado foi:

$$y_{ijkl} = \mu + \theta_i + \alpha(\theta)_{ji} + \beta_k + \tau_l + (\theta\tau)_{il} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde:

$y_{ijkl}$  = valor observado na parcela que recebeu no Quadrado Latino  $i$ , Animal  $j$  dentro do Quadrado Latino  $i$ , Período  $k$ , Tratamento  $l$  e ;

$\mu$  = Efeito geral da média;

$\theta_i$  = Efeito do Quadrado Latino  $i$ ,

$\alpha(\theta)_{ji}$  = Efeito do Animal  $j$  dentro do Quadrado Latino  $i$ ;

$\beta_k$  = Efeito do Período  $k$ ;



$\tau_l$  = Efeito do Tratamento  $l$ ;

$(\theta\tau)_{il}$  = Efeito da interação entre Quadrado Latino  $i$  e Tratamento  $l$ ;

$\varepsilon_{ijk}$  = Erro Aleatório.

Para parâmetros ruminais, o Delineamento Experimental utilizado foi um duplo quadrado Latino 4x4 (2 Quadrados Latinos, 4 Animais dentro de cada Quadrado Latino, 4 Períodos e 4 Tratamentos), avaliados em 5 Tempos (0, 3, 6, 9 e 12 horas).

Os Fatores: Quadrado Latino, Animal e Período, foram considerados como fatores de efeitos aleatórios e os fatores Tratamento e Tempo como fatores de efeitos fixos. O modelo matemático utilizado foi:

$$y_{ijklm} = \mu + \theta_i + \alpha(\theta)_{ji} + \beta_k + \tau_l + (\theta\tau)_{kl} + \tau(\theta\alpha\beta)_{l(jkt)} + \tau_m + (\tau\gamma)_{lm} + \varepsilon_{ijklm}$$

onde:

$y_{ijklm}$  = valor observado na parcela que recebeu no Quadrado Latino  $i$ , Animal  $j$  dentro do Quadrado Latino  $i$ , Período  $k$ , Tratamento  $l$ , e tempo  $m$ ;

$\mu$  = Efeito geral da média;

$\theta_i$  = Efeito do Quadrado Latino  $i$ ,

$\alpha(\theta)_{ji}$  = Efeito do Animal  $j$  dentro do Quadrado Latino  $i$ ;

$\beta_k$  = Efeito do Período  $k$ ;

$\tau_l$  = Efeito do Tratamento  $l$ ;

$(\theta\tau)_{il}$  = Efeito da interação entre Quadrado Latino e Tratamento;

$\tau(\theta\alpha\beta)$  = Componente de variância referente às parcelas;

$\gamma_m$  = Efeito do Tempo  $m$ ;

$(\tau\gamma)_{lm}$  = Efeito da interação entre Tratamento e Tempo;

$\varepsilon_{ijklm}$  = Erro Aleatório.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Dieta Fornecida

Foram observados valores de 31,4% e 29,6 % de MS para silagem controle e inoculada, respectivamente (**Tabela 4**). Os dados encontrados estão de acordo com a literatura, na qual Rocha et al. (2006) e Junges et al. (2013)

encontraram em silagens de milho teores de MS, em média, de 297 e 399 g/kg, respectivamente.

**Tabela 5.** Características químicas (g/kg de MS) de silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis*.

Composição Bromatológica <sup>1</sup>	Silagens	
	Controle	Inoculada
MS	314,5	296,6
MM	50,7	47,4
MO	954,5	957,4
EE	24,3	26,1
PB	87,5	86,8
FDN	445,6	455,4
FDA	223,2	223,7
HEM	262,1	264,7
CEL	180,2	187,1
LIG	26,6	26,0
CHOT	837,5	847,5
CNF	431,9	434,8
EB (MJ/Kg MS)	18,6	18,51
Características fermentativas <sup>2</sup>		
pH	3,83	3,82
N- NH3 (%N total)	5,29	5,48
AC	1,84	1,96
AP	0,13	0,10
AB	0,008	0,007

<sup>1</sup>MS= matéria seca; MM= matéria mineral; MO= matéria orgânica; EE= extrato etéreo; PB= Proteína Bruta; FDN= fibra em detergente neutro; FDA=fibra em detergente ácido; HEM= hemicelulose; CEL=Celulose; LIG= lignina; CHOT= carboidratos totais; CNF=carboidratos não fibrosos; EB= energia bruta; <sup>2</sup>N-NH3 = nitrogênio amoniacal; AC= ácido acético (%); AP= ácido propiônico (%); AB= ácido butírico (%).

A diferença encontrada na MS das silagens de milho (controle e inoculada) está correlacionada com os teores de MS da planta de milho observados no momento da ensilagem (**Tabela 1**). A MS da planta de milho no momento da ensilagem do tratamento controle era de 35,0%, e da planta inoculada era 33,7%.

Os teores de FDN para as silagens controle e inoculada foram 44,5% e 45,5% (**Tabela 5**) respectivamente. Os valores estão dentro da amplitude de variação encontrada por Zopollatto e Sarturi (2009), os autores verificaram teores de FDN entre 39,0% e 48,6% para silagens de milho.

As concentrações de ácido acético foram para silagem controle 1,84% e para silagem inoculada 1,96% (**Tabela 5**). Roth e Undersander (1995) encontraram valores inferiores ao limite de 2,0% para silagem de milho.

Inoculantes para silagem têm sido utilizados para inibir o crescimento de microrganismos aeróbios e anaeróbios indesejáveis, bem como para acelerar o processo de produção de ácidos orgânicos, que leva a uma queda rápida do pH da forragem (KUNG et al., 2003). Os valores de pH encontrados para silagem controle e inoculada foram 3,83 e 3,82 (**Tabela 5**) respectivamente, não observamos alterações no pH em função dos inoculantes. Os valores são semelhantes aos descritos por Kung Jr. e Shaver (2001), que descrevem que os valores de pH considerados ideais para silagem de milho são de 3,7 a 4,2.

Foram encontradas concentrações de 5,29% e 5,48% de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) (**Tabela 5**) para silagem controle e inoculada, respectivamente. Os valores corroboram com os encontrados por Kung Jr. e Shaver (2001), que estabeleceram valores entre 5% a 7%, como limite para esta variável para não ocasionar problemas de redução da palatabilidade e no consumo voluntário.

Os teores de ácido butírico ficaram abaixo de 0,1%, sendo praticamente ausentes. Silagens de milho não devem apresentarem ácido butírico em sua composição (KUNG JR. e SHAVER, 2001), pois a ensilagem da planta com teor de MS adequado inibe o crescimento de clostrídios (McDONALD et al., 1991).

#### **4.2 Digestibilidade Animal**

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) dos inoculantes sobre o consumo de MS, MO, MM, PB, EE, CHOT, CNF e EB (**Tabela 6**). O fato de não apresentarem alteração no consumo de nutrientes, está relacionado ao consumo de MS que não foi alterado.

**Tabela 6.** Consumo de nutrientes (kg/dia) por ovinos Santa Inês alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado.

Item <sup>1</sup>	Controle		Inoculada		EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	60/40	40/60	60/40	40/60		S	R	SxR
MS	1,19	1,14	1,13	1,16	0,04	0,82	0,95	0,69
MO	1,15	1,09	1,11	1,12	0,04	0,98	0,77	0,68
MM	0,04	0,05	0,06	0,04	0,00	0,86	0,27	0,07
FDN	0,37	0,25	0,33	0,22	0,01	0,16	<0,00*	0,11
FDA	0,17	0,10	0,15	0,08	0,00	0,10	<0,00*	0,52
PB	0,18	0,17	0,17	0,18	0,00	0,99	0,84	0,65
EE	0,03	0,03	0,03	0,03	0,00	0,94	0,56	0,27
CHOT	0,89	0,95	0,94	0,90	0,03	0,99	0,87	0,44
CHONF	0,63	0,69	0,67	0,66	0,02	0,91	0,61	0,43
EB	22,62	20,7	21,36	21,27	0,85	0,70	0,75	0,62

<sup>1</sup>MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; MM = matéria mineral; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; CHOT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; EB = energia bruta; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre o tipo de silagem e a relação V:C.\*EPM = erro padrão da média. \*\* P-valores representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada), relações volumoso:concentrado e interação entre estes fatores. \* Significância P<0,05.

Não foi observado efeito no consumo de MS ( $P>0,05$ ), pois as silagens de milho (controle e inoculada) apresentaram valores para o ácido acético de 1,84% e 1,96% respectivamente (**Tabela 6**), dentro do estabelecido por Muck (2010), no qual descreve que o consumo é suprimido com concentrações acima de 5,0%, ou seja, os valores encontrados não comprometeram o consumo de MS. A relação V:C também não interferiu na alteração de consumo de MS contrariando Moreno et al. (2010) que avaliaram diferentes proporções de volumoso e concentrado na dieta de cordeiros e observaram que o consumo de MS foi maior ( $P<0,05$ ) para as dietas que apresentavam 60% de concentrado.

A relação V:C apresentou diferença significativa ( $P<0,05$ ) para FDN e FDA. O consumo de FDN (0,37 kg/dia-controle e 0,33 kg/dia-inoculada) e FDA (0,17 kg/dia-controle e 0,15 kg/dia-inoculada) foram maiores nas dietas com maior relação V:C (60/40), independente do tipo de silagem (controle ou inoculada-**Tabela 6**).

Os valores de CHONF e CHOT não apresentaram resultados significativos ( $P>0,05$ ) concordando com os resultados de Moreno et al. (2010), no qual

também não observaram ( $P>0,05$ ) diferenças no consumo de CHT e CNF em ovinos alimentados com teores variando de 40 a 60% de concentrado.

Nesta pesquisa não foi observado efeito significativo ( $P>0,05$ ), sobre a digestibilidade da MS e nutrientes. No entanto, o FDN obteve maior digestibilidade ( $P<0,05$ ) na relação V:C 60/40, sem efeito sobre o tipo de silagem (**Tabela 7**).

**Tabela 7.** Digestibilidade total (%) da dieta contendo silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado em ovinos Santa Inês.

Item <sup>1</sup>	Controle		Inoculada		EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	60/40	40/60	60/40	40/60		S	R	SxR
MS	74,74	78,68	75,60	76,10	1,00	0,59	0,17	0,30
MO	77,76	81,55	78,51	78,77	0,92	0,49	0,17	0,24
PB	69,51	73,14	71,50	72,99	1,64	0,74	0,36	0,70
FDN	47,39	29,51	43,77	32,98	3,02	0,99	0,01*	0,48
FDA	36,55	28,78	39,57	33,25	1,93	0,29	0,06	0,83
EE	93,59	91,98	89,81	91,32	2,07	0,09	0,20	0,11
CHOT	79,19	82,38	79,74	78,05	0,91	0,34	0,69	0,22
CHONF	96,33	97,18	95,93	96,21	0,42	0,33	0,41	0,68
EM	61,90	62,79	60,80	62,80	1,11	0,67	0,13	0,19

<sup>1</sup>MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; EE = extrato etéreo; CHOT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos. EM = energia metabolizável. S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre o tipo de silagem e a relação V:C. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. \*\* P-valores representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada), relações volumoso:concentrado e interação entre estes fatores. \*Significância  $P<0,05$ .

A digestibilidade dos alimentos está relacionada à relação substrato/enzima e ao tempo de exposição desse substrato aos microrganismos do rúmen (PANCOTI et al., 2007). Com maior consumo de FDN na relação 60/40, maior foi o tempo desse alimento no rúmen (baixa taxa de passagem), conseqüentemente maior digestibilidade dessa dieta.

Os valores de FDA encontrados ficaram todos abaixo de 40%. Segundo Nussio et al. (1998), forragens com valores de FDA em torno de 40% ou mais, apresentam menor digestibilidade, pois a lignina pode interferir na determinação e nos resultados da degradabilidade das frações fibrosas (WALSH et al., 2009). Portanto, os valores de FDA não interferiram na digestibilidade da fibra.

A inoculação da silagem com *L. plantarum* e *B. Subtilis* e a relação V:C não apresentaram efeito no consumo e digestibilidade (MS, MO, MM, PB, FDA, EE, CHOT, CNF, EB) ( $P>0,05$ ). O fato da inoculação não ter apresentado diferenças significativas pode ser explicado por ambas às silagens estarem com os valores nutricionais parecidos (**Tabela 5**).

Neste contexto, Sinval et al. (2006) relatam que o uso de inoculante microbiano não afetou o consumo e as digestibilidades totais dos nutrientes, o pH e a concentração de amônia ruminal. No entanto, Kamarloiy e Yansari (2008) obtiveram acréscimo na digestibilidade de silagens de milho inoculadas em relação a não tratada (sem inoculante) de 4,88; 4,05; 8,06; 4,02 e 16,55% para as variáveis MS, PB, FDN, CNF e EE, respectivamente. Kung Jr. e Muck (1997) também observaram que em 28% dos estudos houve aumento no consumo de MS (+ 4,8% em relação às silagens não inoculadas).

#### 4.3 Parâmetros Ruminais

As dietas com maiores níveis de concentrado (60%) apresentaram menores valores de pH (6,04 e 6,10- $P<0,05$ ) no líquido ruminal nos tempos 0 e 3 horas após a alimentação (**Tabela 8**). O pH do rúmen pode oscilar de 5,5 a 7,2, com valores inferiores de pH detectados em intervalos de tempo curtos, após os animais receberem um dieta rica em concentrado (OWENS e GOETSCH,1993; VALADARES FILHO e PINA, 2006).

**Tabela 8.** Valores de pH no líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	6,14	6,03	6,12	5,99	0,07	0,61	0,05*	0,99
3	6,10	6,04	6,31	6,10	0,06	0,87	0,00*	0,31
6	6,03	5,99	5,96	5,88	0,04	0,26	0,50	0,80
9	5,93	5,99	6,11	5,96	0,05	0,34	0,57	0,20
12	5,69	5,90	5,86	5,74	0,06	0,96	0,64	0,08

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. \*\*P-valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada). \*Significância  $P<0,05$ .

Os valores apresentados estão de acordo com os dados obtidos por Maeda et al. (2007), os quais observaram que o pH do líquido ruminal alcança valores menores até 6 horas após a ingestão de alimento, em decorrência da maior produção de ácidos graxos voláteis proveniente da fermentação dos carboidratos dietéticos no rúmen. Os valores de pH encontrados em todos os tratamentos estão próximos ao estabelecido por Strobel e Russell (1986), para otimizar a síntese de proteína microbiana (valores de pH acima de 6,0), permitindo o melhor aproveitamento do alimento.

Os valores encontrado de N-NH<sub>3</sub> (**Tabela 9**) no líquido ruminal dos animais alimentados com silagem controle no tempo 0 foram maiores (18,42 mg/dl e 13,61mg/dl) (P<0,05) em relação aos animais alimentados com silagem inoculada (11,28mg/dl e 10,36mg/dl), no entanto, todos os valores estão dentro do mínimo de 8 mg/dL preconizados por Detmann *et al.* (2010) para garantir a capacidade dos microrganismos fibrolíticos atuarem na degradação dos componentes fibrosos.

**Tabela 9.** Concentração do nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>-mg/dl) no líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	18,42	13,61	11,28	10,36	1,16	0,03*	0,19	0,37
3	21,82	14,47	23,68	20,91	1,48	0,16	0,09	0,42
6	11,73	10,68	13,05	8,05	1,14	0,78	0,21	0,41
9	11,59	12,38	11,15	8,90	0,71	0,19	0,61	0,30
12	14,40	17,06	19,57	19,90	1,35	0,15	0,58	0,66

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo.<sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. \*\*P-Valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada). \*Significância P<0,05.

A relação volumoso: concentrado não alterou (P>0,05) a concentração de N-NH<sub>3</sub> no líquido ruminal dos ovinos (**Tabela 9**), dados semelhantes aos encontrados por Dutra (1996) e Kinser et al. (1988), que utilizando dietas contendo baixos e altos teores de fibra, não observaram diferenças entre os tratamentos, Cameron et al. (1991) e Grigsby et al. (1993), observaram

redução nas concentrações de N-NH<sub>3</sub> ruminal em animais alimentados com dietas contendo maiores níveis de concentrados.

Foram encontradas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos valores de ácido acético ruminal dos ovinos alimentados com maiores concentrações de concentrado (60%) na dieta (**Tabela 10**) 3 horas após alimentação. Observamos maiores concentrações de ácido acético (40,04mM e 30,85mM) nos tratamentos com maior nível de concentrado discordando com Carvalho et al. (2005) no qual cita que a proporção de AGCC varia de acordo com a forrageira, onde em uma dieta baseada em volumoso apresenta maiores quantidades de acetato.

**Tabela 10.** Concentração de ácido acético (mM) no líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	30,07	37,43	31,32	34,90	2,36	0,88	0,22	0,66
3	27,95	40,04	22,92	30,85	2,60	0,07	0,01*	0,56
6	32,96	25,32	30,01	32,09	2,03	0,59	0,43	0,18
9	35,98	27,34	16,70	18,50	2,07	0,00*	0,19	0,06
12	37,48	26,04	26,28	26,50	2,24	0,14	0,11	0,09

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. \*\*P-Valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada). \*Significância  $P < 0,05$ .

A concentração de ácido propiônico aumentou ( $P < 0,05$ ) no líquido ruminal dos ovinos após 3 horas da alimentação. Observamos maiores valores de ácido propiônico (13,68mM - controle e 10,10mM - inoculada) para os animais alimentados com maior relação de concentrado (60%) (**Tabela 11**), concordando com Carvalho et al. 2005 no qual afirma que para uma dieta a base de concentrado a proporção de propionato aumenta em relação ao acetato, ou seja, esse aumento é atribuído a quantidade de carboidratos rapidamente degradáveis no rúmen que compõe a dieta.



**Tabela 11.** Concentração de ácido propiônico (mM) no líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	7,57	10,99	8,97	9,49	0,74	0,97	0,19	0,32
3	9,13	13,68	8,06	10,10	0,79	0,06	0,01*	0,28
6	11,26	9,44	11,78	10,76	0,55	0,24	0,07	0,59
9	12,78	10,44	6,80	6,38	0,74	0,00*	0,23	0,38
12	14,31	10,81	11,88	9,77	0,87	0,26	0,08	0,64

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. \*\*P-Valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada). \*Significância P<0,05.

Observamos que 9 horas após a alimentação dos ovinos ocorre maior produção de ácido acético (**Tabela 10**) e ácido propiônico (**Tabela 11**) no líquido ruminal dos animais alimentados com silagem controle.

Notamos diferenças significativas (P<0,05) para o ácido butírico no tempo 3 horas (**Tabela 12**). Maiores produções de propionato (**Tabela 11**) e butirato (**Tabela 12**) para dietas com 60% de concentrado provavelmente ocorram, devido à presença de açúcares realmente fermentáveis e amido nesse tratamento (BERCHIELLI, et al. 1996). Leng, (1970) segundo Antunes & Rodriguez (2006), cita que a síntese do butirato pode ocorrer no rúmen a partir do acetato ou de outros compostos.

**Tabela 12.** Concentração de ácido butírico (mM) no líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	5,28	7,02	6,10	6,60	0,48	0,82	0,21	0,48
3	4,83	7,03	4,10	5,76	0,50	0,17	0,01*	0,69
6	5,13	4,50	5,08	5,83	0,40	0,40	0,94	0,36
9	5,06	4,94	8,38	3,65	1,42	0,73	0,41	0,44
12	6,13	4,47	5,09	4,84	0,40	0,59	0,13	0,25

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. \*\*P-Valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada). \*Significância P<0,05.

Os resultados obtidos nesse trabalho para maiores valores de ácido acético (**Tabela 10**), ácido propiônico (**Tabela 11**) e ácido butírico (**Tabela 12**) após 3 horas da ingestão do alimento concordam com os valores máximos de AGCC (acetato, propionato e butirato) obtidos por Ítavo et al. (2000) que obtiveram maiores proporções desses ácidos três horas após alimentação, concomitantemente com valores mínimos de pH (**Tabela 8**), devido à relação inversamente proporcional.

Foi observado efeito de tempo para as concentrações de ácido valérico ( $P < 0,05$ ) (**Tabela 13**), com maiores valores nos tempos 3 horas nas dietas com maiores relação de concentrado (60%). Foram observadas também maiores concentrações ( $P < 0,05$ ) de ácido valérico (**Tabela 13**), ácido acético (**Tabela 10**) e ácido propiônico (**Tabela 11**) no líquido ruminal dos animais alimentados com silagem controle 9 horas após alimentação.

**Tabela 13.** Concentração de ácido valérico (mM) no líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	0,38	0,53	0,41	0,44	0,03	0,58	0,11	0,24
3	0,45	0,71	0,38	0,48	0,05	0,04*	0,01*	0,23
6	0,43	0,39	0,47	0,47	0,03	0,24	0,65	0,63
9	0,50	0,40	0,26	0,27	0,03	0,00*	0,26	0,24
12	0,59	0,41	0,40	0,42	0,04	0,09	0,12	0,06

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média.\*\*P-Valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada). \*Significância  $P < 0,05$ .

Foi observado efeito ( $P < 0,05$ ) para as concentrações de isobutírico (**Tabela 14**), nos tempos 3 e 9 após alimentação na dieta com silagem controle. Foi observado também efeito de tempo ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de isovalérico (**Tabela 15**), com maiores concentrações no tempo 3 no líquido ruminal dos ovinos alimentados com silagem controle e maior relação de volumoso na dieta.

**Tabela 14.** Concentração de ácido isobutírico (mM) no do líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	0,53	0,51	0,53	0,46	0,04	0,72	0,46	0,69
3	0,36	0,45	0,28	0,32	0,03	0,04*	0,21	0,59
6	0,29	0,21	0,26	0,23	0,02	0,91	0,17	0,52
9	0,28	0,26	0,19	0,22	0,02	0,07	0,87	0,28
12	0,28	0,22	0,33	0,44	0,03	0,01*	0,55	0,07

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo.<sup>2</sup>EPM = erro padrão da média.\*\*P-Valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada).\*Significância P<0,05.

**Tabela 15.** Concentração de ácido isovalérico (mM) no do líquido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. plantarum* e *B. subtilis* associada a duas relações volumoso:concentrado avaliados em cinco tempos após a alimentação.

Tempo <sup>1</sup> (h)	Tratamento				EPM <sup>2</sup>	**P-Valor		
	C(60/40)	C(40/60)	I(60/40)	I(40/60)		S	R	SxR
0	0,62	0,87	0,71	0,62	0,06	0,37	0,35	0,07
3	0,56	0,85	0,46	0,52	0,06	0,00*	0,01*	0,07
6	0,43	0,47	0,43	0,35	0,05	0,57	0,82	0,59
9	0,35	0,44	0,32	0,38	0,03	0,36	0,09	0,75
12	0,39	0,46	0,37	0,39	0,04	0,53	0,52	0,66

<sup>1</sup>Tempo em horas após a alimentação; C= Silagem controle; I= Silagem Inoculada; S= tipo de silagem (controle ou inoculada); R=relação V:C (60/40 ou 40/60); SxR= interação entre Tipo de silagem e a Relação V:C e o tempo.<sup>2</sup>EPM = erro padrão da média.\*\*P-Valor - representa a comparação estatística entre silagens (controle e inoculada).\*Significância P<0,05.

Concentrações ruminais de isovalérico e isobutirato (**Tabela 14 e Tabela 15**) podem ser indicativos de fermentação de aminoácidos, quando em altas concentrações, favorecem o acúmulo de tais AGCC, principal fator de redução do pH (VARGAS *et al.*, 2001).

## 5. CONCLUSÕES

Nas condições dessa pesquisa a aplicação do *L. plantarum* e *B. subtilis* no momento da ensilagem do milho e as relações V:C (60/40 e 40/60) estudadas não apresentaram efeito significativo (P<0,05) na digestibilidade e nos parâmetros ruminais dos ovinos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, N, M. Metabolismos dos carboidratos não estruturais. IN: Berchielle, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. de. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p

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

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, Basingstoke, v. 28, p. 261-263, 2002.

ÁVILA, C.L.S.; VALERIANO, A.R.; PINTO, J.C.; FIGUEIREDO, H.C.P. REZENDE, A.V.; SCHWAN, R.F. Chemical and microbiological characteristics of sugar cane silages treated with microbial inoculantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.25-32, 2010.

BARBOSA, H.R.; TORRES, B.B. *Microbiologia básica*. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

BASSO, F. C.; ADESOGAN, A. T.; LARA, E. C.; RABELO, C. H. S.; BERCHIELLI, T. T.; TEIXEIRA, I. A. M. A.; SIQUEIRA, G. R. and REIS, R. A. 2014. Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs. **Journal of Animal Science** 92:5640-5650.

BASSO, F.C. et al. Fermentation and aerobic stability of highmoisture corn silages inoculated with different levels of *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.11, p.2369- 2373, nov., 2012.

BERCHIELLI, T.T.; RODRIGUEZ, N. M.; 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*. Vol. 25, p. 517. 1996.

BERGMAN, E.N. energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v.70, p.567-590, 1990.

BERNARDES, T. F.; ADESOGAN, A. T. Aerobic deterioration of silages in warm climates. In: *Symposium on Strategic Management of Pastures*. 6ed. Viçosa. v. 6, p. 249-268, 2012.

BERNARDES, T.F. ; MORAIS, G. ; SILVA, N.C. . Alternativas de suplementação volumosa na estação seca do ano. *Informe Agropecuário (Belo Horizonte)*, v. 33, p. 102-111, 2012.

BERNARDES, T.F.; REGO, A.C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1852-1861, 2014.

CAMERON, M. R.; KLUSMEYER, T. H.; LYNCH, G. L. Effect of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.1321, 1991.

CARDOSO, A.R.; CARVALHO, S.; GALVANI, D.B. *et al.* Comportamento Ingestivo de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Ciência Rural**, v.36, p.604-609, 2006.

CARDOSO, E.G.; SILVA, J.M. Embrapa gado de corte divulga silos, silagem e ensilagem, Campo Grande, MS, 1995 n02.

CARVALHO, S.; BROCHIER, M.A.; PIVATO, J. *et al.* Desempenho e avaliação econômica da alimentação de cordeiros confinados com dietas contendo diferentes relações volumoso:concentrado. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1411-1417, 2007.

CARVALHO, S.; RODRIGUES, M.T.; BRANCO, R.H. *et al.* Consumo de nutrientes, produção e composição do leite de cabras da raça Alpina alimentadas com dietas contendo diferentes teores de fibra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1154-1661, 2006.

CLARK, J.H., KLUSMEYER., T.H., CAMERON, M.A. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **J. Dairy Sci.**, 75(8):2304-2323.

COAN, R.M. Avaliação da polpa cítrica peletizada como aditivo no processo de ensilagem dos capins tanzânia e marandu. 2005. 205 f. Tese. Departamento de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

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

CORRÊA, L.A.; POTT, E.B. Silagem de Capim. In: CONGRESSO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 2., 2007, Lavras. *Anais...* Lavras, 2007.

COSTA, C.; MONTEIRO, A. L. G.; BERTO, D. A.; ALMEIDA JR., G. A. A.; LOPES, A. B. R. C. Impacto do uso de aditivos e/ou inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. 1, 2001, Maringá. *Anais...* Maringá: UEM, 2001, p. 87-126.

CRUZ, C,J; FILHO ,P,A,I; NETO ,G,M,M Agencia Embrapa de informação tecnológico, recomendações técnicas para silagem AGEITC Embrapa estação biológica 2011.

CRUZ, J. C.; FILHO, I. A. P. In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; RODRIGUES, J.A.; FERREIRA, J.J. (Ed). Produção e utilização de silagem de milho e sorgo. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. cap.1, p.11-37.

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.

DUTRA, A.R. Efeitos dos níveis de fibra e de fontes de proteínas sobre a digestão dos nutrientes e síntese de compostos nitrogenados microbianos em novilhos. 1996.

EVANGELISTA, A.R.; ABREU, J.G.; PEREIRA, R.C. Perdas na conservação de forragens. In: JOBIM, C.C. et al. (Ed.) Simpósio sobre produção e Utilização de forragens conservadas. 2., 2004, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2004. p.75-112.

FAMME, P.; KNUDSEN, J. Direct gas chromatographic determination of short - chain(C2 -C4) volatile fatty acids in aqueous solutions. **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, v. 77, p. 617-618, 1984.

FILYA, I. The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3575-3581, 2003. DOI: 10.3168/jds. S0022-0302(03)73963-0.

FULLER, R. 1989. Probiotics in man and animals. A review. *J. Appl. Bacteriology*, 66:365-378

GORGULU, M.; SIUTA, A.; ONGEL, E.; et al. Effect of probiotic on growing performance and health of calves. **Pakistan Journal of Biological Science**, v.6, n.7, p.651-654, 2003.

GREENHALGH, J.F.D. An introduction to herbage intake measurements. In: LEAVER, J.D. Herbage Intake Handbook. Hurley, UK: The British Grassland Society, 1982. p.1-10.

GRIGSBY, K. N.; KERLEY, M. S.; PARTERSON, J. A. Combination of starch and digestible fiber in supplements for steers consuming a low-quality bromegrass hay diet. *Journal Animal Science*, v.71, p.57, 1993.

HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, n.1, p.35-56, 1993.

HOAL, N.T.; BACCIGALUPI, L.; HUXHAM, A., et al. Characterization of *Bacillus* species used of oral bacteriotherapy and bacterioprophylaxis of gastrointestinal disorders. *Applied and Environmental Microbiology*, v.66, n.12, p.5241-5247, 2000.

HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; DANNER, H.; BRAUN, R. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. **Trends in Biotechnology**, v.21, n.6, p.282-287, 2003.

ÍTAVO, L.C.V., SANTOS, G.T., JOBIM, C.C. et al. Degradabilidade das silagens de bagaço de laranja e de milho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa, MG. *Anais...* Viçosa: SBZ, 2000.

JOBIM, C. C.; PEREIRA, J. R. A.; SANTOS, G. T. Sistemas de produção de leite com ênfase na utilização de volumosos conservados. In: Simpósio sobre volumosos na produção de ruminantes, 10, 2005, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 2005. p. 61-82.

JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D. Microbiologia de forragens conservadas. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. et al. (Eds.) **Volumosos na produção de ruminantes**: valor alimentício de forragens. Jaboticabal: Funep, 2003. p.1-26.

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

JUNGES, D. . Aditivo Microbiano na Silagem de Milho em Diferentes Tempos de Armazenamento e Avaliação da Estabilidade Aeróbia por Termografia em Infravermelho. Curitiba 2010 (Trabalho de Conclusão de Curso/Mestrado).

JUNGES, D.; SCHMIDT, P.; NOVINSKI, C. O. e DANIEL, J. L. P. 2013. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 35:371-377.

KAMARLOIY, M.; YANSARI, A. T. Effect of Microbial Inoculants on the Nutritive Value of Corn Silage for Beef Cattle. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Islamabad, v. 11, n. 8, p. 1137-1141, 2008.

KATZ, E. and DEMAIN, A.L. (1977) The peptide antibiotics of Bacillus: chemistry, biogenesis, and possible role. *Bacteriological Reviews* 41, 449±474.

KEADY, T.W.J., STEEN, W.J. Effects of treating low dry matter grass with a bacterial inoculant on the intake and performance of beef cattle and studies on its mode of action. **Grass Forage Sci.**1994;49:438–446.

KINSER, A. R.; FAHEY, G. C.; BERGER JUNIOR, L. L. Low quality roughages in highconcentrate pelleted diets for sheep: digestion and metabolism of nitrogen and energy as affected by dietary fiber concentration. *Journal of Animal Science*, v.66, p.487, 1988.

KLIEVE, A. V.; HENNESSY, D.; OUWERKERK, D.; FORSTER, R. J.; MACKIE, R. I.; ATTWOOD, G. T. Establishing populations of *Megasphaera elsdenii* YE

34 and *Butyrivibrio fibrisolvens* YE 44 in the rumen of cattle fed high grain diets. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v.95, n. 3, p.621–630, 2003.

KNICKY, M. Possibilities to improve silage conservation. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005.

KOCHERGINSKAYA, S. A.; AMINOV, R. I; WHITE, B. A. Analysis of the rumen bacterial diversity under two different diet conditions using denaturing gradient gel electrophoresis, random sequencing, and statistical ecology approaches. *Anaerobe*, London, v.7, n.3, p.119–134, 200.

KUNG JR., L. 2008. Effects of microbial additives in silages: facts and perspectives. In: M. Zopollatto, G.B.Muraro and L.G. Nussio (Eds.). *International Symposium on Forage Quality and Conservation*. São Pedro. pp: 7-22.

KUNG JR., L. Effects of microbial additives in silages: facts and perspectives. In: *International Symposium on forage quality and conservation*, 1., 2009, Sao Pedro. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2009,p.280.

KUNG JR., L. Use of additives in silage fermentation. In: *Directfed microbial, enzyme and forage additive compendium*. 1996. p.37-42.

KUNG JR., L.; GRIEVE, D.B.; THOMAS, J.W. et al. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.2, p.299-306, 1984.

KUNG JR., L.; MUCK, R. E. Animal Response to Silage Additives. **Proceedings...**Silage: Field to Feedbunk. North American Conference, Hershey, Pennsylvania,1997. p. 200-210.

KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p.305-360.

KUNG JUNIOR, L.; SHAVER, R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. **Focus on Forage**, v.3, p.1-5, 2001.

KUNG, JR., L. et al. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1479-1486, 2000.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H.M.; PINHO, R.S.C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, n.2, p.12-20, 2010.

LEE, W. S.; LEE, B. S.; OH, Y. K.; KIM, K.H.; KANG, S.W.; LEE, S.S.; HA, J.K. Effects of concentrate to roughage ratios on duration and frequencies of



rumination and chewing in Hanwoo steers. *Korean Journal of Animal Science*, v.46, p.55-60, 2004.

LEIBENSPERGER, P.Y.; PITT, R.E. A model of clostridial dominance in silage. ***Grass and Forrage Science***, v.42, p.297-317, 1987.

LI, M.; PENNER, G. B.; HERNANDEZ-SANABRIA, E.; OBA, M.; GUAN, L. L. Effects of sampling location and time, and host animal on assessment of bacterial diversity and fermentation parameters in the bovine rumen. *Journal of Applied Microbiology, Oxford*, v,107, n.6, p.1924–1934, 2009.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science, New York*, v. 147, p. 747-748, 1965.

MAEDA, E. M.; ZEOULA, L. M.; GERON, L. J. V.; BEST, J.; PRADO, I. N.; MARTINS, E. N.; KAZAMA, R. Digestibilidade e características ruminais de dietas com diferentes níveis de concentrado para bubalinos e bovinos. ***Revista Brasileira de Zootecnia***, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 716-726, 2007.

MARTIN, C.; FONTY, G.; MICHALET-DOREAU, B., Factors affecting the fiberlytic activity of the digestive microbial ecosystems in ruminants. In: S. A. Martin (ed.), *Gastrointestinal Microbiology in Animals*. Research Signpost, Trivandrum, India, p.1–18, 2002.

MC ALLISTER, T. A.; BEAUCHEMIN, K. A.; ALAZZEH, A. Y.; BAAH, J.; TEATHER, R. M. and STANFORD, K. 2011. The use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 91:193-211.

MC DONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S.J. E. ***Biochemistry of silagem***. 2 ed. Marlow: Chalcombe, 1991.

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

Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80, 1463-1481.

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

MERTENS, D.R. Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. In: INFORMATIONAL CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGES INDUSTRIES, 1996, Wisconsin. ***Proceedings...*** Wisconsin: 1996. p.81-92.

MIRANDA, L. F.; QUEIROZ, A. C.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P.R.; PEREIRA, E.S.; PAULINO, M.F.; LANA, R.P.; MIRANDA, J.R. Comportamento ingestivo de novilhas leiteiras alimentadas com dietas a base de cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.3, p.614-620, 1999.

MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 55, p. 453-460, 1983.

MORAN, J. P.; OWEN, T. R. The effects of Ecosyl treated silage on milk production by lactating cows. In: National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization, 1994, Lincoln. **Proceedings...** Lincoln: University of Nebraska, 1994. p. 126.

MORENO, G.M.B.; SILVA SOBRINHO, A.G.; LEÃO, A.G. et al. Rendimentos de carcaça, composição tecidual e musculabilidade da perna de cordeiros alimentados com silagem de milho ou cana-de-açúcar em dois níveis de concentrado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.3, p.686-695, 2010.

MORRISON, M.; MACKIE, R.I. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. **Australian Journal Agricultural Research**, v.47, n.2, p.227-246, 1996.

MUCK, R. E Microbiology of ensiling. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Hameenlinna. **Proceedings...** Hameenlinna, Finland: MTT Agrifood Reserch Finland University of Helsinki of Helsinki, 2012. P. 75-86.

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

MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. In: SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL, 67., 1993, New York. **Proceedings...** New York: NRAES, 1993. p.106-116.

MUCK, R.E., PITT,R., E., LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage.1. Microbial characteristics. *Grass Forage Sci.*, 46(3):283-290, 1991.

MUCK, R.E.; MOSER, L.E.; PITT, R.E. Postharvest factors affecting ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARISSON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. p.251-304.

MUCK, R.E.; MOSER, L.E.; PITT, R.E. Postharvest factors affecting ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.251-304.

MUHLBACH, P.R.F. Silagem: produção com controle de perdas. In: LOBATO, J.F.P.; BARCELOS, J.O.J.; HESSLER, A.M. (Eds.) **Produção de bovinos de corte**. Porto Alegre: Pontificia Universidade Católica, 1999. p.97-120.

MULLER, T.; BEHRENDT, U.; MULLER, M. Antagonistic activity in plant-associated lactic acid bacteria. **Microbiological Research**, Jena, v. 151, p. 63-70, 1996.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, sup., p. E17-E38, 2007.

NAGARAJA, T.G.; TOWNE, G.; BEHARKA, A.A. Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a High-Grain diet. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, D.C, v.58, n.8, p.2410-2414, 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of small ruminants. 2006, 362p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of small ruminants. 2007, 362p.

NETO, M. P. et al. Produção e uso de silagens. Governo do Estado do Rio Grande do Norte. ISSN 1983-280, 2009.

NEUMANN, M. Efeito do tamanho de partícula e da altura de colheita das plantas de milho (*Zea mays* L.) sobre perdas, valor nutritivo de silagens e desempenho de novilhos confinados. 2006. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

NUSSIO, L. G., CAMPOS, F. P., DIAS, F. N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. In: Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Maringá-PR. 2001. **Anais...UEM/CCA/DZO**, Maringá, v.1, p.127-145,2001.

NUSSIO, L.G., MANZANO, R.P. e PEDREIRA, C.G.S. 1998. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. Simpósio sobre Manejo da Pastagem, 15. **Anais... FEALQ/ESALQ**. Piracicaba. pp. 203-242.

ØRSKOV, E.R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.63, n.5, p.1624-33, 1986.

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

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Fermentación ruminal. In: CHURCH, D.C. *El ruminante, fisiología digestiva y nutrición*: Zaragoza: Acríbia, 1993. p.159-190.  
PAHLOW, G; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.)**Silage science and technology**. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.31-94.

PANCOTI, C.G.; CAMPOS, M.M.; BORGES, A.L.C.C. et al. Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, e consumo de matéria seca digestível de dietas de cana-de-açúcar sem ou com adição de óxido de cálcio com diferentes níveis de inclusão de uréia em ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2007. (CD-ROM)

PAZIANI, S.F.; CAMPOS, F.P.; SILAGEM DE MILHO: PONTO IDEAL DE COLHEITA E SUAS IMPLICAÇÕES . Apta regional, Pesquisa & Tecnologia, vol. 12, n. 1, Jan-Jun 2015.

PERRY, T. W., BEESON, W. M., MOHLER, M. T. Effect of monensin on beef cattle performance. **Journal Animal Science**, v. 42, p. 761-765, 1976.

PUTRINO, S. M. et al. Digestibilidade aparente de dietas com níveis crescentes de concentrado em novilhos Brangus e Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 02, p. 406-413, 2007.

REIS, R. A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; ALMEIDA, E. O.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; BERNARDES, T. F. 2008. Efeito de doses de *Lactobacillus buchneri* "cepa NCIMB 40788" sobre as perdas nos períodos de fermentação e pós-abertura da silagem de grãos úmidos de milho. **Ciência Animal Brasileira** 9:923-934.

REIS, R.A.; JOBIM, C.C. Perfil da fração de carboidratos da planta e adequação de aditivos no processo de ensilagem. In: WORKSHOP SOBRE MILHO PARA SILAGEM, 2. Piracicaba, 2001. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, p.27-52, 2001.

REUTER, G. Bifidobacteria cultures as components of yoghurt-like products. *Bifidobacteria Microflora*, v.9, p.107-118, 1990.

ROCHA, K. D.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; OLIVEIRA, A. P.; PACHECO, L. B. B.; CHIZZOTTI, F. H. M. 2006. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zea mays* L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia** 35:389-395.

ROTH, G., UNDERSANDER, D. Silage additives. In: **Corn Silage Production Management and Feeding**. MADISON: Madison American Society of Agronomy, p.27-29. 1995.

RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. Mini-Review: the effect of ionophores on ruminal fermentations. **Appl. Environ. Microbiol.**v. 55: p. 1-6, 1989.

RUSSELL, J.B. Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. Ithaca: James B. Russell, 2002. 119p.

SANDERS, M. E.; MORELLI, L.; TOMPKINS, T. A. Sporeforms as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*. *Comprehensive*

Reviews in Food Science and Food Safety – Institute of Food Technologists. v.2, p.101-110, 2003.

SANTOS, F. A. P; MENDOÇA, P. A. Metabolismo de proteínas In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed). *Nutrição de Ruminantes*. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011, p. 255-286.

SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S.; BEAUCHEMIN, K. A.; GIBB, D. J.; CREWS Jr., D. H.; HICKMAN, D. D.; STREETER, M.; McALLISTER, T. A. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: a review. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 81, n. 14, sup. 2, E 149-E 158, 2003.

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

SILVEIRA, J. Consumo e digestibilidade de silagem de híbridos de milho em função do estágio fenológico e processamento. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus Botucatu, 2009.

SINVAL, A. V. et al. Consumo e digestibilidades dos nutrientes em bovinos recebendo dietas contendo silagens de milho e sorgo, com e sem inoculante microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**. vol.35 n.6 Viçosa Nov./Dec. 2006.

SNIFFEN, C.J; O'CONNOR, J.D.; van SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p.3562-3577, 1992.

STERN, M.D., HOOVER, W.H. 1979. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. **Journal Animal Science**., 49(6):1590-1603.

STOCK, R.A., LAUDERT, S.B., STROUP, W.W. et al. 1995. Effect of monensin and monensin and tylosin combination on feed intake variation of feedlot steers. **Journal Animal Science**., 73:39-44.

STROBEL, H.J. and RUSSELL, J.B. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal Dairy Science**, 69: 2941-2947.

SUCU, E.; FILYA, I. Effects of homofermentative lactic acid bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability characteristics of low dry matter corn silages. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Science**, Tubitak, v. 30, p. 83-88, 2006.

TAJIMA, K.; AMINOV, R. I.; NAGAMINE, T.; MATSUI, H.; NAKAMURA, M.; BENNO, Y. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with realtime PCR. **Applied Environmental Microbiology**, Washington D.C, v.67, n.6 p.2766– 2774, 2001.

TEIXEIRA, F.F.; SOUZA, I.R.P.; GAMA, E.E.G.; PACHECO, C.A.P; PARENTONI, S.N.; SANTOS, M.X.; MEIRELLES, W.F. Avaliação da capacidade de combinação entre linhagens de milho doce. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.25, n.3, p.483-488, 2001.

TODOVORA, S; KOZHUHAROVA, L. Characteristics and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soil. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.96, p.1151-1161, 2009.

VALADARES FILHO, S. DE C.; PINA, D. DOS S. Fermentação Ruminal. IN: BERCHIELLE, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. de. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

VALADARES FILHO, S.C., COELHO DA SILVA, J.F., LEÃO, M.I. 1987. Estudo comparativo da digestão de matéria seca e carboidratos em bovinos e bubalinos alimentados com diferentes rações. **R. Soc. Bras. Zootec.**, 16(2):120-130.

VALDARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed). *Nutrição de Ruminantes*. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011, p. 161-189.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Cornell University, Ithaca, 1985.

VAN SOEST, P.J.; Integrated feeding systems. In: **Nutritional ecology of the ruminant**. 2<sup>nd</sup> ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. P. 140-55.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; MÂNCIO, A.B. *et al.* Influência de Rumensin®, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos. **Rev. Bras. Zootec.**, v.30, p.1650-1658, 2001.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações para ruminantes**. 98p., 1980. Tese (Doutorado em Zootecnia) apresentada à Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WALSH, K.; O'KIELY, P.; TAWHEEL, H.Z et al. Intake, digestibility and rumen characteristics in cattle offered whole-crop wheat or barley silages of contrasting grain to straw ratios. **Animal Feed Science and Technology**. v. 148, p. 192-213, 2009.

WEINBERG, Z. G.; SHATZ, O.; CHEN, Y.; YOSEF, E.; NIKBAHAT, M.; BENGHEDALIA, D.; MIRON, J. Effect of lactic acid bacteria inoculants on in

vitro digestibility of wheat and corn silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4754-4762, 2007.

WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; HEN, Y. et al. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. **Journal of Applied Bacteriology**, v.75, p.512-518, 1993.

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

WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E.; WEIMER, P.J.; CHEN, Y. and GAMBURG, M. 2004. Lactic acid bacteria used in inoculants for silage as probiotics for ruminants. **Appl Biochem Biotech**, 118: 1-9.

WELKIE, D.G.; STEVENSON, D.M.; WEIMER, P.J. analysis of ruminal bacterial community dynamics in lactating dairy cows during the feeding cycle. *Anaerobe*, London, v.16, n.2, p.94–100, 2010.

WOOLFORD, M.K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v.68, p.101-116, 1990.

YANG, W.Z.; BEAUCHEMIM, K.A.; RODES, L.A. Effects of grain processing, forage to concentrate ration, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.84, p. 203–2216, 2001.

ZAMBOM, M.A.; ALCALDE, C.R.; SILVA, K.T. et al. Ingestão, digestibilidade das rações e produção de leite em cabras Saanen submetidas a diferentes relações volumoso:concentrado na ração. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2505-2514, 2005 (supl.).

ZEOULA, L. M.; FERELI, F.; PRADO, I. N.; GERON, L. J. V.; CALDAS NETO, S .F.; PRADO, O. P. P.; MAEDA, E. M. Digestibilidade e balanço de nitrogênio com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho como fonte de amido em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 2179- 2186, 2006.

ZOPOLLATO, M.; SARTURI, J. O. Optimization of the animal production system based on the selection of corn cultivars for silage. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 1., 2009, São Pedro. Proceedings... Piracicaba: FEALQ, 2009. p.73-90.

ZOPOLLATTO, M.; RECO, P.C. Características agronômicas e bromatológicas de híbridos de milho para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 3, p. 411 – 417, 2009.

