

Estádio de Desenvolvimento do Milho. 3. Avaliação de Silagens por Intermédio de Parâmetros de Fermentação Ruminal¹

Otávia Elisa Nogueira Mendes Lavezzo², Wagner Lavezzo^{2,3}, Francisco Stefano Wechsler²

RESUMO - Analisou-se o padrão de fermentação ruminal de silagens de milho confeccionadas com os grãos nos estádios leitoso (ML), pamonha (MP), farináceo (MF) e semi-duro (MSD). O fluido ruminal dos ovinos foi colhido via sonda esofagiana, nos tempos 0, 1, 3 e 6 horas pós-fornecimento das silagens. Não se observaram diferenças entre as silagens para o nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e o tempo de redução do azul de metileno (TRAM). Quanto ao pH, ocorreu diferença apenas entre ML (6,82) e MSD (6,53). Para os AGV totais e ácido acético (mM), não houve diferença apenas entre ML (respectivamente, 36,40 e 22,13) e MP (respectivamente, 42,49 e 25,73), bem como entre MF (respectivamente, 64,52 e 40,34) e MSD (respectivamente, 64,09 e 43,61). Com relação ao horário de amostragem do fluido ruminal, nos tempos 1 e 3 horas pós-alimentação, ocorreram os menores valores de pH (respectivamente, 6,47 e 6,63), os maiores níveis de N-NH_3 (respectivamente, 9,75 e 10,56 mg/100 mL de fluido) e os maiores teores de AGV totais e dos ácidos acético e propiônico (respectivamente, 60,33; 37,05; 16,73 e 59,40; 35,28; 16,84 mM). Com base nos valores de pH, AGV totais e individuais, as silagens MF e MSD apresentaram os melhores padrões de fermentação ruminal.

Palavras-chave: estágio de maturidade, fermentação ruminal, ovinos, silagem de milho

Corn Development. 3. Silage Evaluation by Rumen Fermentation Parameters

ABSTRACT- The objective of this experiment was to analyze the rumen fermentation of silages made from corn harvested at milk stage (MS), milk early dough stage (MEDS), medium dough stage (MDS) and semi-hard dough stage (SHDS). Rumen fluid was collected from sheep by esophageal tube at 0, 1, 3 and 6 hours after feeding. There were no differences among silages for ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) and methylene blue reduction time (MBRT). Only the MS and SHDS silages differed in rumen pH (6.82 and 6.53, respectively). Differences in total rumen VFA and acetic acid concentrations (mmoles/L) were observed among stages, but not between MS (36.40 and 22.13) and MEDS (42.49 and 25.73), nor between MDS (64.52 and 40.34 respectively) and SHDS (64.09 and 43.61, respectively). The periods of 1 and 3 hours after feeding showed the smallest pH values (6.47 and 6.63), the highest $\text{NH}_3\text{-N}$ concentrations (9.75 and 10.56 mg/dL) and the highest concentrations of total VFA, and acetic and propionic acids (60.33, 37.05 and 16.73; 59.40, 35.28 and 16.84 mmoles/L, respectively). On the whole, the MDS and SHDS silages showed the best rumen fermentation patterns based on pH and total and individual VFA values.

Key Words: corn silage, maturity stage, rumen fermentation, sheep

Introdução

O milho é considerado planta padrão para ensilagem, pois quase sempre produz silagem de boa qualidade, com perdas reduzidas. No entanto, é preciso observar o grau de maturidade ideal em que a planta de milho deve ser colhida e, assim, estabelecer o efeito do grau de maturidade da planta, no momento da colheita, sobre o valor nutritivo da silagem.

Atualmente, está bem estabelecido que a avaliação de uma dieta deve incluir também a determinação do padrão de fermentação ruminal correspondente, para se ter indicação de seu real potencial em promover melhoria no desempenho animal. Isto se aplica

também a alimentos tradicionalmente empregados no arração animal e de eficiência comprovada sobre o desempenho, como é o caso da silagem de milho.

JOHNSON e McCLURE (1968) verificaram que a digestibilidade da matéria seca e matéria orgânica de silagens de milho foram significativamente afetadas pela maturidade, alcançando o máximo no estágio farináceo (27,5% de MS) e diminuindo levemente depois disso. Constataram também que a produção máxima de energia digestível pode ser alcançada entre os estádios farináceo e vítreo. CHAMBERLAIN et al. (1971), quando colheram plantas de milho para confecção de silagem nos estádios leitoso final, pamonha

¹Pesquisa parcialmente financiada pela FAPESP.

²Professor da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu, SP.

³Bolsista do CNPq.

inicial, pamonha final e farináceo, registraram consumo maior para as confeccionadas com o milho nos estádios de pamonha inicial e final em relação às aquelas com o milho nos demais estádios estudados.

PHILLIP et al. (1980) relataram que, para silagem de milho com 38% de MS, o pH ruminal diminuiu até cerca de 3 horas pós-alimentação, sendo 6,4 o seu valor mínimo. O pH reflete a dieta (CHURCH, 1979), afetando não só os produtos finais de fermentação, mas também a taxa de crescimento das bactérias e protozoários (HOBSON, 1965), havendo variação nos microorganismos predominantes no rúmen em função do mesmo (HOBSON, 1972). Dietas ricas em volumosos, geralmente, evidenciam pH ruminal mais alto e resultam em aumento de microorganismos celulolíticos (CHURCH, 1979). O pH ruminal varia diuturnamente, decrescendo com os picos de N-amoniacoal e ácidos graxos voláteis (AGV), refletindo, provavelmente, um estímulo na fermentação ruminal e uma concentração de AGV com a qual se correlaciona negativamente (DE FARIA e HUBER, 1984).

No tocante ao N-amoniacoal, SATTER e SLYTER (1974) mostraram *in vitro* que concentrações superiores a 5mg/100mL de fluido ruminal representavam excesso que não era utilizado para a síntese microbiana. A dieta de silagem de milho com 33% MS, estudada por DE FARIA e HUBER (1984), raramente apresentou teores maiores que 3mg N-amoniacoal/100mL de fluido, o que é considerado muito baixo para uma ótima fermentação ruminal (KANG - MEZNARICH e BRODERICK, 1980). De acordo com MEHREZ et al. (1977), o máximo de atividade fermentativa ruminal é obtido quando o N-amoniacoal alcança de 19 a 23mg/100mL de fluido. SLYTER et al. (1979) indicaram que animais recebendo dieta com 13,3% de proteína ou mais apresentaram acúmulo de N-amoniacoal no rúmen, apontando que os microorganismos foram supridos com mais N-amoniacoal do que podiam utilizar.

Este estudo foi realizado para caracterizar o padrão de mudanças no pH, N-amoniacoal, ácidos graxos voláteis e atividade bacteriana, no decorrer do dia, em ovinos alimentados com silagens de milho confeccionadas com grãos em quatro estádios de maturidade, sem nenhuma suplementação protéica.

Material e Métodos

O presente estudo foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu.

Como volumoso para ensilagem, utilizou-se o milho híbrido Agrocere AG-162, colhido quando os grãos se encontravam nos pontos leitoso (ML), pamonha (MP), farináceo (MF) e semi-duro (MSD). A composição bromatológica das silagens, para MS e para PB, FDN, FDA, CEL e NDT, em 100% MS, é a seguinte: 24,35; 7,66; 61,57; 37,74; 29,73; e 68,57% (ML), 28,65; 7,40; 59,10; 33,37; 26,10; e 63,07% (MP), 31,24; 7,52; 56,45; 30,24; 23,42; e 70,09% (MF), 31,41; 6,75; 57,96; 30,05; 22,68; e 66,36% (MSD), conforme consta no trabalho de LAVEZZO et al. (1997).

Como silos experimentais, foram utilizados tambores metálicos de 200 litros de capacidade. A silagem permaneceu armazenada por, aproximadamente, 90 dias.

Foram empregados 12 ovinos (três por tratamento) machos, castrados, da raça Corriedale, com idade aproximada de 40 meses e peso médio de 57,5kg. Transcorrido um período de 27 dias de adaptação às silagens, os animais tiveram o fluido ruminal amostrado via sonda esofagiana, nos tempos 0, 1, 3 e 6 horas após o fornecimento das silagens de milho. Os ovinos foram alimentados uma só vez, pela manhã, às 8 h, com uma quantidade de silagem restrita, correspondente a 80% do consumo voluntário anteriormente determinado, tendo sido registrados, para os consumos de MS e PB, os seguintes valores em g/kg^{0,75}: 37,01 e 2,83 (ML); 38,91 e 2,87 (MP); 48,15 e 3,62 (MF); e 43,37 e 3,18 (MSD). O consumo de água foi *ad libitum*.

Os parâmetros de fermentação ruminal mensurados foram: pH, N-amoniacoal (mg/100mL de fluido ruminal), ácidos graxos voláteis (mM) - totais, acético, propiônico, n-butírico, isovalérico e n-valérico - e tempo de redução do azul de metileno (minutos).

A amostragem do fluido ruminal via sonda esofagiana foi feita de acordo com a técnica descrita por HOFIREK (1970). A sonda constou de um tubo de borracha macia com diâmetro interno aproximado de 1 cm. Um vácuo de cerca de 1,05 (kgf/cm²) foi aplicado para a extração do fluido, usando-se, para isso, uma bomba de vácuo.

A primeira porção do líquido de rúmen coletado foi sempre descartada para se minimizar a sua contaminação com saliva (LAVEZZO, 1986). O restante do fluido foi colocado em botijão plástico e, em seguida, encaminhado para as determinações de pH, ácidos graxos voláteis (AGV), nitrogênio amoniacoal (N-NH₃) e tempo de redução do azul de metileno

(TRAM).

As determinações do pH foram feitas sempre imediatamente após a amostragem e com o líquido de rúmen sem sofrer qualquer processo de filtração. A prova de mensuração do tempo de redução do azul de metileno, segundo DIRKSEN (1969), foi utilizada para verificar a atividade da flora bacteriana do fluido ruminal. Para tal, misturou-se 1ml da solução de azul de metileno 0,03% a 20mL do fluido de rúmen filtrado. O resultado foi expresso em minutos necessários para haver a descoloração da solução. As amostras do conteúdo ruminal destinadas às mensurações de AGV e N-NH₃ sempre passaram por um processo de filtração através de quatro camadas de “pano de laboratório” (“cheese cloth”). Os níveis de AGV foram determinados segundo a técnica descrita por ERWIN et al. (1961), através de cromatografia gasosa, com detector de chama ionizada. As concentrações de N-amoniaco foram determinadas segundo a marcha proposta por KULASEK (1972) e adaptada por FOLDAGER (1977). As concentrações de N-NH₃ foram expressas em mg de N-NH₃ por 100mL de fluido ruminal. As leituras em absorbância das várias amostras de fluido ruminal foram feitas a 640 nm, em espectrofotômetro.

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados (três repetições), em parcelas subdivididas (parcelas = quatro tipos de silagem de milho; subparcelas = quatro tempos de amostragem do fluido ruminal), em observações repetidas. As análises foram realizadas por intermédio do Programa Statistical Analysis System (SAS, 1988).

A significância estatística da interação dieta x tempo foi verificada mediante testes F, com os graus de liberdade corrigidos segundo HUYNH e FELDT (1976). Foram também estabelecidas as equações de regressão das variáveis estudadas.

Resultados e Discussão

Pela análise da Tabela 1, observa-se que os valores registrados para pH ruminal, concentração de N-NH₃ e tempo de redução do azul de metileno (TRAM) não revelaram diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) para os ovinos alimentados com os quatro tipos de silagem de milho estudados, apresentando médias respectivas de 6,69; 7,02 mg/100mL de fluido ruminal; e 4 min 30 s.

O valor médio de pH (6,69), registrado para os ovinos sob os quatro tipos de silagem de milho estudados, está muito próximo do valor 6,8, mensurado

por DE FARIA e HUBER (1984), para dieta exclusiva de silagem de milho, com 33,5% MS e consumo médio diário de MS de 1,9% do peso vivo. Apesar de os ovinos, na presente pesquisa, terem apresentado consumo médio diário de MS mais baixo (respectivamente, 1,09; 1,14; 1,37; e 1,39% do peso vivo, para ML, MP, MF e MSD), constata-se, pelo valor 6,69 obtido, que o menor consumo de MS observado não influenciou na magnitude dos valores do pH. Isto concorda com os dados de PUTNAM et al. (1966), que relataram apenas leve mudança no valor do pH do fluido ruminal dos animais alimentados com dietas constituídas por 89% de volumosos, quando o nível de consumo baixou de 2 e 2,6% para 0,8 e 1,4% do peso vivo.

A concentração média de 7,02 mg N-NH₃/100 mL, registrada neste estudo, foi superior aos 1,5mg N-NH₃/100 mL mensurados por DE FARIA e HUBER (1984), para dietas exclusivas de silagem de milho. Segundo esses autores, existe tendência de se obterem concentrações baixas de N-NH₃ no fluido ruminal de animais alimentados à base de silagem, apesar de, no caso de silagens enriquecidas com uréia, o consumo de N ser alto. Segundo GRIFFITHS e BATH (1973), este fato é, provavelmente, consequência do processo de ensilagem, em que grande porção protéica da planta verde já é hidrolisada durante a fermentação no silo, restando pouca proteína passível de ser fermentada no rúmen. Isto, provavelmente, não ocorreu com as silagens de milho deste estudo, porque, apesar do consumo de N (g/cabeça/dia) ter sido baixo (respectivamente 7,64; 7,76; 9,39 e 8,62, para ML, MP, MF e MSD), o nível médio de N-NH₃ ruminal, ainda, foi de 7,02 mg/100 mL de fluido. No entanto, aos mais altos consumos de N (MF e MSD) corresponderam os mais baixos valores de N-NH₃ ruminal (6,44mg/100mL, para MF e MSD). Para GRIFFITHS et al. (1973), os níveis mais baixos de N-total e N-NH₃, encontrados no fluido ruminal de animais alimentados com dietas à base de silagem, podem ser causados pela maior velocidade de passagem dos materiais solúveis pelo rúmen, como consequência do alto consumo de água por animais submetidos a estas dietas. Na pesquisa em apreço, o fato de o consumo de MS ($\bar{x} = 41,86\text{g/kg}^{0,75}$) e a concentração ruminal de N-NH₃ ($\bar{x} = 7,02\text{ mg/100 mL}$) serem semelhantes, para os quatro tipos de silagem de milho, sugere que a quantidade de substrato fermentado propiciou aos ovinos disponibilidade de amônia superior a 5 mg/100 mL de fluido, estabelecida por SATTER e SLYTER (1974), como sendo a mínima ideal para a ocorrência de máxima fermentação microbiana ruminal, podendo ter favorecido a atuação

dos microorganismos ruminais, mas estando, no entanto, muito aquém do ideal (19 a 23 mg N-NH₃/100 mL de fluido, conforme MEHREZ et al, 1977), para propiciar a máxima atuação dos microorganismos ruminais.

Verifica-se, pela Tabela 1, que os quatro tipos de silagem de milho apresentaram atividade microbiana semelhante denunciada pela similaridade ($P>0,05$) entre os tempos de redução do azul de metileno - TRAM (respectivamente, 4 min 32 s; 4 min 28 s; 4 min 33 s; e 4 min 28 s, para ML, MP, MF e MSD). O TRAM é uma prova proposta por DIRKSEN (1969), para verificar a atividade da flora bacteriana do líquido ruminal, sendo seu tempo de duração de 2 a 5 min. À maior atividade bacteriana correspondem valores mais baixos de TRAM. Disto se depreende que os quatro tipos de silagem de milho suscitaram intensidade semelhante de atividade fermentativa da microflora ruminal, sendo a mesma ($\bar{x}$ = 4 min 30 s) baixa, de acordo com o padrão proposto por DIRKSEN (1969).

As oscilações cíclicas significativas ($P<0,05$) observadas, conforme a Tabela 2, nos quatro horários de coleta estudados (0, 1, 3 e 6 horas pós-alimentação), para as variáveis pH, N-NH₃ e TRAM, apresentam significado fisiológico, sendo um reflexo da atividade metabólica ruminal dinâmica, ao longo do

dia. Assim, com relação ao pH, o valor mais baixo ocorreu 1 hora após a alimentação, tendo sido resultante, provavelmente, de mudanças nas concentrações dos AGV, bem como da quantidade de saliva produzida (CHURCH, 1979), além de ter sido, possivelmente, influenciado pela velocidade de passagem da digesta para os outros compartimentos, pela velocidade de absorção dos produtos finais da fermentação ruminal e pelo tipo de dieta (SINGH e SUD, 1981). A elevação diuturna da concentração ruminal de amônia alcançou o seu máximo 1 e 3 horas pós-alimentação (respectivamente, 9,75 e 10,56 mg/100 mL), horários estes correspondentes aos valores mais baixos de pH. Isto reflete uma estimulação na fermentação ruminal, denunciada por um TRAM mais baixo, nestes horários (3 min 14 s e 3 min 36 s, respectivamente), o que indica maior atividade bacteriana em relação aos tempos 0 e 6 horas pós-alimentação (respectivamente, 6 min 16 s e 4 min 51 s). No tempo 0 (jejum), ocorreu o maior TRAM, indicando, praticamente, ausência de atividade bacteriana.

Pelo exame da Tabela 2, verifica-se que o valor 6,98 de pH registrado à 0 hora está de acordo com KOLB (1984), no que se refere ao fato de que, no jejum, o pH ruminal se eleva a valores próximos à

Tabela 1 - Parâmetros de avaliação da atividade ruminal mensurados em ovinos alimentados com quatro tipos de silagem de milho

Table 1 - Evaluation parameters of ruminal activity measured in sheep fed four types of corn silages

Item	Tratamento (Treatment) ¹				
	ML MS	MP MED	MF SMD	MSD SHDS	
pH	6,81	6,70	6,71	6,53	ns
N-NH ₃ (mg/100mL) ²	8,05	7,14	6,44	6,44	ns
TRAM (MBRT) ³ , min	4,52	4,46	4,52	4,46	ns
AGV t (TVFA) ⁴ , mM	36,40	42,49	64,52	64,09	**
Ác. acét. (Acetic acid), mM	22,13	25,73	40,34	43,61	**
Ác. prop. (Propionic acid), mM	7,88	11,68	17,34	14,54	ns
Ác. n-but. (N-Butyric acid), mM	5,18	4,21	5,68	5,09	ns
Ác. isov. (Isovaleric acid), mM	0,85	0,30	0,56	0,32	**
Ác. n-val. (N-Valeric acid), mM	0,36	0,56	0,60	0,54	*
Ác. acét. (Acetic acid), %	62,08	61,79	63,30	68,39	ns
Ác. prop. (Propionic acid), %	21,24	26,63	25,74	22,32	ns
Ác. n-but. (N-Butyric acid), %	13,45	9,60	9,08	7,94	*
Ác. isova. (Isovaleric acid), %	2,26	0,74	0,93	0,54	**
Ác. n-val. (N-Valeric acid), %	0,96	1,25	0,94	0,81	ns

¹ML = milho leitoso (MS = milk stage).

MP = milho pamonha (MEDS = milk early dough stage).

MF = milho farináceo (MDS = medium dough stage).

MSD = milho semi-duro (SHDS = semi-hard dough stage).

²N-NH₃ = N amoniacal.

TRAM = tempo de redução do azul de metileno.

AGV t = ácidos graxos voláteis totais.

Ác. acét. = ácido acético.

Ác. prop. = ácido propiônico.

Ác. n-but. = ácido n-butírico.

Ác. isov. = ácido isovalérico.

Ác. n-val. = ácido n-valérico.

³MBRT = methylene blue reduction time.

⁴VFA = total volatile fatty acids.

Tabela 2 - Influência dos horários de coleta do fluido ruminal sobre a fermentação ruminal de ovinos alimentados com quatro tipos de silagem de milho

Table 2 - Effect of ruminal fluid collecting times on ruminal fermentation measured in sheep fed four types of corn silage

Item	Horário de coleta após a alimentação (h) Collecting times after feeding				
	0	1	3	6	
pH	6,98	6,47	6,63	6,68	**
N-NH ₃ (mg/100mL) ²	3,25	9,75	10,56	4,51	**
TRAM (MBRT) ³ , min	6,27	3,24	3,60	4,85	**
AGV t (TVFA) ⁴ , mM	29,70	60,33	59,40	58,07	**
Ác. acét. (Acetic acid), mM	21,36	37,05	35,28	38,11	**
Ác. prop. (Propionic acid), mM	5,62	16,73	16,01	13,08	**
Ác. n-but. (N-Butyric acid), mM	2,17	5,49	6,75	5,75	**
Ác. isov. (Isovaleric acid), mM	0,33	0,51	0,62	0,56	**
Ác. n-val. (N-Valeric acid), mM	0,22	0,54	0,73	0,56	**
Ác. acét. (Acetic acid), %	71,39	60,63	59,01	64,54	**
Ác. prop. (Propionic acid), %	19,20	27,36	26,70	22,65	**
Ác. n-but. (N-Butyric acid), %	7,45	10,10	11,90	10,62	**
Ác. isova. (Isovaleric acid)	1,17	0,96	1,17	1,18	ns
Ác. n-val. (N-Valeric acid)	0,78	0,95	1,23	1,00	**

¹ML = milho leitoso (MS = milk stage).

MP = milho pamonha (MEDS = milk early dough stage).

MF = milho farináceo (MDS = medium dough stage).

MSD = milho semi-duro (SHDS = semi-hard dough stage).

²N-NH₃ = N amoniacal.³TRAM = tempo de redução do azul de metileno (MBRT = methylene blue reduction time).

AGV t = ácidos graxos voláteis totais (VFA = total volatile fatty acids).

Ác. acét. = ácido acético.

Ác. prop. = ácido propiônico.

Ác. N-but. = ácido n-butiúrico.

Ác. isov. = ácido isovalérico.

Ác. n-val = ácido n-valérico.

neutralidade. Também se observa que, logo após o maior consumo alimentar, houve decréscimo do pH (6,47 à 1 hora pós-alimentação), que, em seguida, se elevou registrando-se o valor 6,68 às 6 horas pós-alimentação. O pico de N-NH₃ ruminal foi observado 1 e 3 horas pós-alimentação, o que concorda com os relatos de LAVEZZO et al. (1988), os quais registraram concentrações máximas de N-NH₃ 2 e 4 horas pós-fornecimento de dietas à base de silagem de sorgo enriquecidas com levedura ou com farelo de algodão. Os níveis mensurados nos vários horários da presente pesquisa foram, no entanto, sempre inferiores ao mínimo de 19-23 mg/100 mL, considerado necessário para a máxima taxa de fermentação ruminal por MEHREZ et al. (1977), mas, por outro lado, nos horários 1 e 3 horas, foram encontrados valores superiores a 5 mg/100 mL de fluido, requeridos, conforme SATTER e SLYTER (1974), para ótima síntese de proteína microbiana no rúmen.

O caráter dinâmico da fermentação ruminal sugere que a variação do consumo alimentar pelo ruminante afeta não só o pH ruminal, mas também a concentração e a proporção dos AGV (RUMSEY et al., 1970). Pelo exame da Tabela 1, observa-se que isto ocorreu na presente pesquisa, em razão de níveis

mais altos de consumo de matéria seca digestível das silagens, verificados para MF e MSD (respectivamente, 31,74 e 29,45 g MSD/kg^{0,75}), terem promovido aumentos consistentes (P<0,01), nos níveis de AGV totais (respectivamente, 36,40; 42,49; 64,52; e 64,09 mM, para ML, MP, MF e MSD) e do ácido n-valérico (P<0,05) (respectivamente, 0,36; 0,56; 0,60; e 0,54 mM para ML, MP, MF e MSD). Para o ácido propiônico (concentração e proporção molar) e a proporção molar do ácido n-valérico, o fator tipo de silagem não alterou o padrão de fermentação ruminal, parecendo que as variações apresentadas foram provocadas por diferenças na digestibilidade do tipo de silagem de milho. Assim, a silagem MF (com maiores coeficientes de digestibilidade de MS, PB, FDA conforme LAVEZZO et al., 1997) tendeu a apresentar os valores mais elevados destes parâmetros.

Observa-se, pela Tabela 2, que houve variações diurnas significativas (P<0,01), para os AGV totais e os ácidos propiônico, n-valérico e suas respectivas proporções molares. Verificaram-se valores maiores, nos tempos 1 e 3 horas pós-alimentação, para os AGV totais e o ácido propiônico (concentração e proporção molar) e, no tempo 3 horas, para a concen-

Tabela 3 - Parâmetros de fermentação ruminal, com variação significativa, mensurados em ovinos alimentados com quatro tipos de silagens de milho, em quatro horários de coleta

Table 3 - Ruminal fermentation parameters, with significant variance, measured in sheep fed four types of corn silage, at four collecting times

Dieta ¹ Diet	Horário após a alimentação (h) Collecting times after feeding			
	0	1	3	6
		Ác. Acético (<i>Acetic acid</i>), mM		
ML (MS)	15,98	21,90	25,14	25,48
MP (MEDS)	15,16	27,14	31,89	28,72
MF (MDS)	26,73	50,70	36,47	47,46
MSD (SHDS)	27,56	48,46	47,62	50,79
		Ác. n-butírico (<i>N-Butyric acid</i>), mM		
ML (MS)	1,70	6,02	7,44	5,56
MP (MEDS)	1,70	4,48	5,84	4,82
MF (MDS)	2,44	6,36	7,55	6,36
MSD (SHDS)	2,84	5,11	6,18	6,24
		Ác. isovalérico (<i>Isovaleric acid</i>), mM		
ML (MS) ¹	0,39	0,68	1,12	1,22
MP (MEDS)	0,20	0,35	0,34	0,30
MF (MDS)	0,39	0,68	0,68	0,49
MSD (SHDS)	0,34	0,34	0,34	0,24
		Ác. Acético (<i>Acetic acid</i>), %		
ML (MS)	71,78	57,29	56,55	62,70
MP (MEDS)	68,68	58,42	58,29	61,77
MF (MDS)	72,91	60,77	55,33	64,20
MSD (SHDS)	72,17	66,05	65,86	69,48
		Ác. n-butírico (<i>N-Butyric acid</i>), %		
ML (MS)	7,65	15,58	16,73	13,84
MP (MEDS)	7,72	9,65	10,71	10,31
MF (MDS)	6,97	8,21	11,57	9,59
MSD (SHDS)	7,48	6,96	8,56	8,74
		Ác. isovalérico (<i>Isovaleric acid</i>), %		
ML (MS)	1,75	1,77	2,53	2,99
MP (MEDS)	0,91	0,73	0,64	0,67
MF (MDS)	1,11	0,86	1,04	0,72
MSD (SHDS)	0,91	0,46	0,47	0,34

¹ ML = milho leitoso (MS = milk stage).

MP = milho pamonha (MEDS = milk early dough stage).

MF = milho farináceo (MDS = medium dough stage).

MSD = milho semi-duro (SHDS = semi-hard dough stage).

tração do ácido n-valérico e sua respectiva proporção molar.

A análise de variância revelou interação significativa entre os tipos de silagem de milho e os tempos de amostragem do fluido ruminal, para os ácidos: acético, n-butírico, isovalérico e suas respectivas proporções molares (Tabela 3).

Para o ácido acético, observou-se que as silagens MF e MSD apresentaram concentrações superiores à ML e MP, em todos os horários. No caso das silagens ML e MP, verificou-se que houve elevação lenta no nível do ácido acético sem declínio abrupto, o que caracteriza alimentos com alto teor de fibra (KOLB, 1984), tendo ocorrido o pico 3 horas pós-alimentação. As equações de regressão são, respectivamente, linear e quadrática (Tabela 4). No caso das silagens MF e MSD, observou-se queda da

concentração de ácido acético 3 horas pós-alimentação, com registro do maior valor 1 hora pós-alimentação. Para ambas as silagens, as equações de regressão são cúbicas (Tabela 4). O estágio de maturação do milho usado na ensilagem influenciou na proporção molar do ácido acético, sendo que MSD ($\bar{x} = 68,39\%$) e MF ($\bar{x} = 63,30\%$) apresentaram proporções molares deste ácido maiores que ML e MP (respectivamente, médias de 62,08 e 61,79%). As equações de regressão obtidas foram quadráticas (para MSD e MF) e cúbicas (para ML e MP). Deve-se ressaltar que, para as silagens estudadas, deve ter ocorrido um processo fermentativo predominantemente de desdobramento de celulose, caracterizado por proporção molar do ácido acético próximo de 70% (BATH e ROOK, 1965).

Em relação ao ácido n-butírico, da mesma forma,

Tabela 4 - Equações de regressão da fermentação ruminal para ovinos alimentados com quatro tipos de silagem de milho sob quatro horários de coleta de fluido ruminal (0, 1, 3 e 6 horas pós-alimentação)
 Table 4 - Regression equations of ruminal fermentation for sheep fed four types of corn silage at four collecting times of ruminal fluid (0, 1, 3 and 6 hours after feeding)

Dieta Diet	Fermentação ruminal Ruminal fermentation
	Ác. acético (Acetic acid), mM
ML ¹ (MS)	$\hat{y} = 18,68 + 1,38x$
MP (MEDS)	$\hat{y} = 16,59 + 9,18x - 1,20x^2$
MF (MDS)	$\hat{y} = 26,73 + 40,60x - 18,71x^2 + 2,09x^3$
MSD (SHDS)	$\hat{y} = 27,56 + 31,71x - 12,04x^2 + 1,23x^3$
	Ác. n-butírico (N-Butyric acid), mM
ML (MS) ¹	$\hat{y} = 1,70 + 5,99x - 1,82x^2 + 0,16x^3$
MP (MEDS)	$\hat{y} = 1,98 + 2,30x - 0,30x^2$
MF (MDS)	$\hat{y} = 2,44 + 5,48x - 1,71x^2 + 0,15x^3$
MSD (SHDS)	$\hat{y} = 3,11 + 1,72x - 0,20x^2$
	Ác. isovalérico (Isovaleric acid), mM
ML (MS) ¹	$\hat{y} = 0,38 + 0,35x - 0,03x^2$
MP (MEDS)	ns
MF (MDS)	$\hat{y} = 0,44 + 0,19x - 0,03x^2$
MSD (SHDS)	ns
	Ác. Acético (Acetic acid), %
ML (MS) ¹	$\hat{y} = 71,78 - 21,31x + 7,52x^2 - 0,70x^3$
MP (MEDS)	$\hat{y} = 68,68 - 15,24x + 5,50x^2 - 0,52x^3$
MF (MDS)	$\hat{y} = 71,77 + 10,50x + 1,54x^2$
MSD (SHDS)	$\hat{y} = 71,18 - 3,96x + 0,62x^2$
	Ác. n-butírico (N-Butyric acid), %
ML (MS) ¹	$\hat{y} = 7,65 + 11,46x - 3,88x^2 + 0,36x^3$
MP (MEDS)	$\hat{y} = 7,90 + 1,60x - 0,20x^2$
MF (MDS)	$\hat{y} = 6,62 + 2,56x - 0,34x^2$
MSD (SHDS)	$\hat{y} = 7,25 + 0,27x$
	Ác. isovalérico (Isovaleric acid), %
ML (MS) ¹	$\hat{y} = 1,70 + 0,22x$
MP (MEDS)	ns
MF (MDS)	ns
MSD (SHDS)	$\hat{y} = 0,72 - 0,07x$

¹ML = milho leitoso (MS = milk stage).

MP = milho pamonha (MEDS = milk early dough stage).

MF = milho farináceo (MDS = medium dough stage).

MSD = milho semi-duro (SHDS = semi-hard dough stage).

registrou-se que a dieta MF apresentou os maiores níveis, contrariando os relatos de ANDERSON e JACKSON (1971) de que o aumento do estágio de maturidade provocaria decréscimo no nível deste ácido. Todas as silagens apresentaram pico de concentração do ácido n-butírico 3 horas pós-alimentação (Tabela 3), uma vez que ML e MF apresentaram variação cúbica e MP e MSD, variação quadrática, estando as equações de regressão registradas na Tabela 4. Já com relação à proporção molar do ácido n-butírico, em comparação às demais silagens, ML apresentou valores superiores em todos os horários e variação cúbica, enquanto MP e MF propiciaram valores intermediários e variação quadrática e MSD, valores inferiores e variação linear (Tabelas 3 e 4).

No tocante ao ácido isovalérico, verificou-se que as silagens MP e MSD não provocaram variações diurnas nos níveis deste ácido, enquanto, para ML e MF, evidenciou-se variação quadrática, com teores maiores ocorrendo 3 e 6 horas e 1 e 3 horas pós-alimentação, respectivamente (Tabelas 3 e 4). Já na presente pesquisa, a proporção molar deste ácido variou linearmente para as silagens ML e MSD (Tabela 4), sendo que, marcadamente, ML apresentou valores superiores à MSD, em todos os horários estudados. As silagens MP e MF não provocaram variações diurnas significativas, para a proporção molar do ácido isovalérico (Tabelas 3 e 4). Observa-se, igualmente, que as menores concentrações deste ácido ocorreram nas silagens com maior teor de MS, o que pode estar relacionado com sua utilização mais

rápida pela microflora ruminal.

Conclusões

Os ovinos alimentados com os quatro tipos de silagem de milho apresentaram semelhança com relação aos parâmetros de fermentação ruminal: pH e N-NH₃, bem como evidenciaram atividade bacteriana similar e baixa (tempo de redução do azul de metileno).

Quanto aos níveis de AGV totais e individuais: acético, n-butírico, isovalérico e n-valérico, verificou-se que as silagens de milho confeccionadas com o grão nos estádios farináceo e semi-duro apresentaram os melhores padrões de fermentação ruminal.

No tocante aos horários de coleta do fluido ruminal estudados, nos tempos 1 e 3 horas pós-fornecimento das silagens de milho, registraram-se os valores mais baixos de pH e do tempo de redução do azul de metileno (maior atividade bacteriana), bem como os níveis mais altos de N-NH₃ e dos AGV totais e individuais.

Referências Bibliográficas

- ANDERSON, B.K., JACKSON, N. Volatile fatty acids in the rumen of sheep fed grass, unwilted and wilted silage, and barn-dried hay. *J. Agric. Sci.*, v.77, n.3, p.483-490, 1971.
- BATH, I.H., ROOK, J.A.F. The evaluation of cattle foods and diets in terms of the ruminal concentration of volatile fatty acids. II. Roughages and succulents. *J. Agric. Sci.*, v.64, n.1, p.67-75, 1965.
- CHAMBERLAIN, H.C., FRIBOURG, H.A., BARTH, K.M. et al. Effect of maturity of corn silage at harvest on the performance of feeder heifer. *J. Anim. Sci.*, v.33, n.1, p.161-166, 1971.
- CHURCH, D.C. *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. Vol. 1 - Digestive Physiology*. 3 ed. Oxford Press Inc., 1979. 350p.
- DE FARIA, V.P., HUBER, J.T. Effect of dietary protein and energy levels on rumen fermentation in holstein steers. *J. Anim. Sci.*, v.58, n.2, p.452-459, 1984.
- DIRKSEN, G. Ist die methylenblauprobe die schnelle test für die klenische Pansensaftunt greingnet. *Deu. Tierärztl. Wochenschr.*, v.76, n.15, p.305-309, 1969.
- ERWIN, E.S., MARCO, G.J., EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.*, v.44, n.9, p.1768-1771, 1961.
- FOLDAGER, J. *Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation*. East Lansing, Michigan State University, 1977. Tese (PhD - Michigan State University).
- GRIFFITHS, T.W., BATH, I.H. Effects of energy and nitrogen fermentation of silage diets on rumen fermentation in fistulated heifers. *J. Agric. Sci.*, v.80, n.1, p.89-95, 1973.
- GRIFFITHS, T.H., SPILLANE, T.A., BATH, I.H. Studies on the nutritive value of silage with particular reference to the effects of energy and nitrogen supplementation in growing heifers. *J. Agric. Sci.*, v.80, n.1, p.75-88, 1973.
- HOBSON, P.N. Continuous culture of some anaerobic and facultatively anaerobic rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, v.38, n.2, p.167-180, 1965.
- HOBSON, P.N. Physiological characteristics of rumen microbes and relation to diet and fermentation patterns. *Proc. Nutr. Soc.*, v.31, n.2, p.135-139, 1972.
- HOFIREK, B.A. Simple method for coollecting of the rumen liquor of cattle for diagnostic purpose. *Vet. Med.*, v.15, n.3, p.75-85, 1970.
- HUYNH, H., FELDT, L.S. Estimation of the box correction for degrees of freedom from sample data in the randomized block and split plot designs. *J. Educ. Statistics*, v.1, n.1, p.69-82, 1976.
- JOHNSON, R.R., McCLURE, K.E. Corn plant maturity. 4. Effects on digestibility of corn silage in sheep. *J. Anim. Sci.*, v.27, n.2, p.535-540, 1968.
- KANG-MEZNARICH, J.H., BRODERICK, G.A. Effects of incremental urea supplementation on ruminal ammonia concentration and bacterial protein formation. *J. Anim. Sci.*, v.51, n.2, p.422-431, 1980.
- KOLB, E. *Fisiologia Veterinária*. 4 ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1984. 612p.
- KUSALEK, G. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood and blood cells using urease and phenol reagent. *Pol. Arc. Wet.*, v.15, n.4, p.801-810, 1972.
- LAVEZZO, O.E.N.M. *Influência de métodos de coleta de fluido ruminal sobre os parâmetros de fermentação, em bovinos alimentados com diferentes fontes de proteína*. Piracicaba, SP, ESALQ, 1986. 167p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, 1986.
- LAVEZZO, O.E.N.M., LAVEZZO, W., SIQUEIRA, E.R. Estádio de desenvolvimento do milho. II. Efeito sobre o consumo e digestibilidade da silagem em ovinos. *R. Soc. Bras. Zootec.*, v.26, n.4, p. 683-690, 1997.
- LAVEZZO, O.E.N.M., MATTOS, W.R.S., LAVEZZO, W. et al. Efeito de duas fontes de proteína sobre os parâmetros de fermentação ruminal, em bovinos alimentados com ração à base de silagem de sorgo. *R. Soc. Bras. Zootec.*, v.17, n.3, p.292-307, 1988.
- MEHREZ, A.Z., ORSKOV, E.R., McDONALD, I. Rates of rumen fermentaton in relation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.* v.38, n.3, p.437-443, 1977.
- PHILLIP, L.E., BUCHANAN-SMITH, J.G., GROVUM, W.L. Effect of ensiling whole plant corn on voluntary intake , rumen fermentation, retention time and rate of digestion in steers. *J. Anim. Sci.*, v.51, n.4, p.1003-1010, 1980.
- PUTNAM, P.A., LEHMANN, R. DAVIS, R.E. Feed intake and salivary secretion by steers. *J. Anim. Sci.*, v.25, n.3, p.817-820, 1966.
- RUMSEY, T.S., PUTNAM, P.A., BOND, J. et al. Influence of level and type of diet on ruminal pH and VFA, respiratory rate and EKG patterns of steers. *J. Anim. Sci.*, v.31, n.3, p.608-616, 1970.
- SAS. Language Guide, Release 6.03 Ed. Cary: SAS Institute, 1988. 530p.
- SATTER, L.D., SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.*, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SINGH, N., SUD, S.C. Effect of different diets on pH and protein fractions in the rumen of buffaloes. *Ind. J. Dairy Sci.*, v.34, n.3, p.284-287, 1981.
- SLYTER, L.L., SATTER, L.D., DINIUS, D.A. Effect of ruminal ammonia concentration on nitrogen utilization by steers. *J. Anim. Sci.*, v.48, n.4, p.906-912, 1979.

Recebido em 14/06/96

Aceito em 16/07/97