

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

ANA CAROLINA GONÇALVES PRESTES

**CINÉTICA RUMINAL *IN VITRO* DE SILAGENS DE AVEIA BRANCA
COM DIFERENTES TEORES DE MATÉRIA SECA INOCULADAS
COM ADITIVO MICROBIANO-ENZIMÁTICO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2021

ANA CAROLINA GONÇALVES PRESTES

**CINÉTICA RUMINAL *IN VITRO* DE SILAGENS DE AVEIA
BRANCACOM DIFERENTES TEORES DE MATÉRIA SECA
INOCULADAS COM ADITIVO MICROBIANO-ENZIMÁTICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Fernando Reimann Skonieski

Coorientadora: Ms. Jaqueline Destri

DOIS VIZINHOS

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos
Curso de Zootecnia



FOLHA DE APROVAÇÃO

TCC

**CINÉTICA RUMINAL *IN VITRO* DE SILAGENS DE AVEIA BRANCA
COM DIFERENTES TEORES DE MATÉRIA SECA INOCULADAS
COM ADITIVO MICROBIANO-ENZIMÁTICO**

Autor: Ana Carolina Gonçalves Prestes

Orientador: Prof. Dr. Fernando Reimann Skonieski

Coorientadora: Ms. Jaqueline Destri

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADA em 12 de maio de 2021.

Prof.^a. Dr.^a. Magali Floriano da Silveira

Prof.^a. Dr.^a. Emilyn Midori Maeda

Prof. Dr. Fernando Skonieski

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela vida e por me permitir viver o sonho da graduação.

A minha mãe, Isabel, que nunca mediu esforços para que eu pudesse chegar até aqui, minha maior inspiração.

Aos familiares e amigos que de alguma forma me ajudaram em momentos de dificuldades e que compartilharam comigo momentos de alegria durante esses anos, em especial minhas amigas Thaís, que me recebeu como parte da família nos momentos mais difíceis e Mariana, que mesmo distante sempre me ouviu e me motivou nos dias ruins.

Ao meu orientador, Dr. Fernando Skonieski, e minha co-orientadora Ms. Jaqueline Destri, pelo desenvolvimento desse projeto, pelas contribuições e ensinamentos me passados.

A todos os professores da universidade, que contribuíram e estão contribuindo para minha formação.

Muito obrigada!

RESUMO

PESTES, ANA C. G. Cinética ruminal *in vitro* de silagens de aveia branca com diferentes teores de matéria seca inoculadas com aditivo microbiano-enzimático. 28 f. Trabalho (Conclusão de Curso) - Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

O uso de silagem para conservar a forragem é muito utilizada em épocas de vazio forrageiro. A aveia branca é uma cultura adaptada ao clima frio, portanto, se torna uma opção de forragem para ser ensilada nessa época. O uso de aditivos em silagens atua na redução do pH por meio da multiplicação de bactérias lácticas, proporcionando fermentações desejáveis e mais eficientes da silagem. O objetivo desse projeto foi avaliar a cinética ruminal *in vitro* de silagens de aveia branca inoculadas com aditivo microbiano e enzimático. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análises de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. A cultura da aveia foi implantada no mês de maio de 2019, e a ensilagem realizada no mês de julho de 2019, em dois estádios de maturação, com 23 e 28% de matéria seca (MS), e em seguida armazenada em microsilos com cinco níveis do aditivo (0, 500, 1000, 1500 e 2000 mg/kg MV). A abertura dos microsilos ocorreu após 42 dias de fermentação, e foram coletadas as amostras para proceder com a incubação do material para análise *in vitro*. Foram avaliados os seguintes parâmetros da cinética de degradação ruminal *in vitro*: tempo de latência (lag time), volume de gás acumulado e taxa de degradação, por período de 144 horas de incubação *in vitro* nos diferentes tratamentos e foram estimados através do procedimento de modelos não lineares, utilizando um modelo matemático unicompartmental. A silagem de aveia branca com 23% MS apresentou maior volume de produção de gás *in vitro*, enquanto a adição do inoculante microbiano-enzimático aumentou a taxa de produção de gás *in vitro* e diminuiu o tempo de meia vida das silagens. A maior taxa de produção de gás *in vitro* e menor tempo de meia vida das silagens poderiam ser obtidos com as doses de 774,43 kg/t⁻¹ MV e 756,30 kg/t⁻¹ MV do inoculante, respectivamente.

Palavras chaves: Inoculantes. Degradabilidade Ruminal. Conservação de Forragem.

ABSTRACT

PESTES, ANA C. G. In vitro ruminal kinetic of white oat silages with diferente levels of dry matter inoculated with microbial-enzymatic additive. 28 p. Labor Course Completion-Undergraduate degree in Animal Science, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

The use of silage for conservation the forage is widely used in a time of forage emptiness. The white oat is a culture adapted to cold weather, then it is a forage option to be ensiled at that time. The use of silage additives acts to reduce the pH by multiplying lactic acid bacteria, providing desirable and more efficient fermentation of the silage. The objective of this project was evaluate the ruminal kinetic in vitro of white oat silages inoculated with microbial and enzymatic additives. The work was conducted in Food Analysis Laboratory of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. The oat culture was implanted in the month of May 2019 and the ensiling realized in the month of July 2019, at two stages of maturation, with 23 and 28% DM and then stored in micro silos with five levels of the additive (0, 500, 1000, 1500 e 2000 mg/kg MV). The opening of micro silos occurred after 42 days of fermentation, and sample were collected to proceed with the incubation of the material for in vitro analysis. Was evaluated parameters of kinetic of ruminal degradation in vitro: latency time (lag time), accumulated gas volume and degradation rate, for a period of 144 hours of in vitro incubation in the diferente treatments and was estimated through the procedure of nonlinear model, using a unicompartamental mathematical model. White oat silage with 23% DM showed higher in vitro gas production volume, while the addition of the microbial-enzyme inoculant increased the in vitro gas production rate and decreased the half-life time of the silages. The highest in vitro gas production rate and shortest half-life time of silages could be obtained with the doses of 774.43 kg/t-1 MV and 756.30 kg/t-1 MV of the inoculant, respectively.

Key words: Inoculants. Ruminal Degradability. Forage Conservation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Curva de degradação ruminal <i>in vitro</i> de silagem de aveia branca com 23% MS inoculadas com diferentes doses de aditivo microbiano-enzimático.....	17
Figura 2 Curva de degradação ruminal <i>in vitro</i> de silagem de aveia branca com 28% MS inoculadas com diferentes doses de aditivo microbiano-enzimático.....	18
Figura 3 Taxas de produção de gás <i>in vitro</i> de silagens de aveia branca inoculadas com aditivo microbiano-enzimático	20
Figura 4 Tempo de meia vida de silagens de aveia branca inoculadas com aditivo microbiano-enzimático.....	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo geral	9
2.2 Objetivos específicos	9
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1 Aveia branca	10
3.2 Silagem de aveia branca	10
3.3 Processos fermentativos da silagem	11
3.4 Inoculantes microbiano-enzimáticos	12
3.5 Cinética ruminal <i>in vitro</i>	13
4 MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 Confeção da silagem.....	15
4.2 Cinética ruminal <i>in vitro</i>	16
4.3 Análises estatísticas	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO.....	22
REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

A produção animal no Brasil, é baseada principalmente na criação à pasto, no entanto o clima é um fator limitante que pode promover a escassez de forragem em determinadas épocas do ano, fazendo com que o produtor busque por alternativas que possam suprir a demanda de alimento para os animais. Uma das alternativas mais difundidas no país é a conservação da forragem por meio da ensilagem, processo no qual a forragem sofre fermentação anaeróbia por meio de bactérias produtoras de ácido lático (REIS; MOREIRA, 2001), que reduzem o pH da forragem, permitindo sua conservação por longos períodos de tempo.

Diferentes espécies forrageiras podem ser ensiladas, entre elas, a aveia branca que é comumente utilizada na região sul do Brasil, e se destaca pelo alto valor nutritivo no período de inverno. No entanto, o processo de ensilagem requer determinados cuidados, independente da espécie a ser utilizada, a fim de obter uma silagem de qualidade. Um dos fatores que afetam o processo de fermentação da silagem é o uso de forragens com alto teor de umidade, que ocasiona perdas do material, fazendo com que o animal não tenha aproveitamento desse alimento. Nesse sentido, o manejo de pré secagem da forragem pode diminuir a alta umidade da planta, essa técnica consiste em cortar a planta e deixar exposta ao sol durante um período de tempo para que haja certa redução da água da planta, reduzindo assim a ocorrência de fermentações indesejáveis da silagem (SILVEIRA, 2015).

Além disso, outra alternativa que vem sendo empregada é o uso de aditivos que atuam melhorando o processo fermentativo de silagens, como é o caso dos inoculantes microenzimáticos. Esse tipo de aditivo proporciona um incremento nas bactérias fermentadoras que agem diminuindo rapidamente o pH da silagem iniciando mais rapidamente o processo fermentativo e de maneira eficiente.

Como forma de avaliar a qualidade dos alimentos para ter conhecimento sobre seu aproveitamento pelo ruminante pode ser utilizada a técnica de produção de gás *in vitro*, a qual permite o estudo dos parâmetros da cinética da degradação. Quanto a isso, o uso de aditivos pode melhorar a produção de gases, uma vez que as bactérias do ácido lático (BAL) presentes em aditivos acelera a degradação de carboidratos solúveis (SUN et al., 2009), promovendo uma melhor conversão dos ácidos orgânicos, que serão aproveitados pelos ruminantes.

Nesse sentido, objetivou-se avaliar a produção de gás *in vitro* de silagens de aveia branca com diferentes teores de matéria seca inoculadas com aditivo microbiano e enzimático.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a produção de gás *in vitro* de silagens de aveia branca com diferentes teores de matéria seca inoculadas com aditivo microbiano-enzimático.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de diferentes níveis de aditivo microbiano-enzimático sobre o volume de gases e a taxa de produção de gases da fermentação *in vitro* das silagens de aveia branca;
- Correlacionar o acúmulo e a taxa de produção de gases com os parâmetros fermentativos e nutricionais das silagens de aveia branca inoculadas com o aditivo microbiano-enzimático.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aveia branca

A aveia branca é uma gramínea de clima temperado, pertencente à família Poaceae, apresenta crescimento cespitoso e pode atingir altura superior a 1 metro, variando de acordo com a cultivar e características de solo e ambiente (PRIMAVESI et al., 2000). É uma forragem que se estabelece melhor em solos férteis, bem drenados, com altos teores de matéria orgânica e não é tolerante a solos encharcados e com altos teores de alumínio (PRIMAVESI, 2000). A faixa de temperatura considerada ideal para seu desenvolvimento é entre 20 a 25 °C (MAZURKIEVICZ, 2014).

Dentre os cereais de inverno, a aveia branca possui grande importância na produção agrícola. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab, 2020), na safra de inverno de 2020 foram utilizados 429,7 mil hectares para cultivo da aveia no Brasil e a região de maior produção foi a região sul, produzindo 1014,5 mil toneladas de grãos. É utilizada principalmente na região Centro-Sul do Brasil, como alternativa no inverno (FLOSS et al., 2007). Além da boa adaptação no clima frio seu uso também se dá pelo fato de possuir alto valor nutritivo, segundo o NRC (2001) o grão da aveia apresenta em média 90% MS, 13,2% PB, 30% FDN e 78,5% NDT.

Pode ser utilizada para formação de pastagens de forma isolada ou de forma consorciada com outras forrageiras, também para a produção de feno e silagem, ou ainda, como cobertura verde, contribuindo para melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (BATTISTI, 2012). Embora o Brasil não seja conhecido mundialmente como produtor de aveia, vem apresentando expansão considerável de área plantada com esta cultura.

3.2 Silagem de aveia branca

Sabe-se que os animais precisam receber alimento de qualidade durante todo o ano para que apresentem desempenho produtivo esperado. O pastejo da aveia pelo animal é uma alternativa econômica para suprir sua demanda, no entanto as condições climáticas podem dificultar o manejo correto da cultura, dessa forma a ensilagem da aveia permite que o produtor armazene essa forragem para o período de escassez de pastagem (JOHNE, 2015).

A aveia branca, portanto, surge como uma alternativa para produção de silagem, pois seu cultivo ocorre no período de inverno, que não coincide com o cultivo de culturas de verão, como o milho (COPETTI, 2017). Entre os cereais de inverno, a aveia branca apresenta expressiva produção de massa seca, chegando a 7 toneladas de MS por hectare, é uma ótima espécie produtora de grãos e apresenta grande potencial para pastejo, produção de feno e

silagem (JOHNE, 2015).

Nos países de clima temperado, a produção de silagem de aveia tem sido estudada, principalmente com relação ao melhor estágio de maturação para realizar seu corte (BOIN et al., 2005), já que a produção da silagem de aveia pode ser em função de diferentes estádios, como na pré floração, quando ainda não iniciou o estágio de senescência ou quando a planta completa seu estágio final, ou seja, na fase de grão duro. (COPETTI, 2017). Sendo esse fator importante para fermentação da silagem uma vez que nos diferentes estádios a planta apresenta diferentes teores de matéria seca.

Os cereais de inverno são boas opções de plantas forrageiras durante seu estágio vegetativo pois, apresentam altos níveis de digestibilidade e proteína (FONTANELI et al., 2012). No entanto, segundo Primavesi et al. (2000), se o corte da aveia para produção de silagem seja feito durante a floração é necessário fazer a pré-secagem da forragem, a fim de eliminar o excesso de umidade. No estágio de floração, a aveia apresenta seu maior teor de açúcar, menor teor de fibra e alto teor de proteína, sendo que o alto teor de açúcar é importante para a fermentação da silagem.

A aveia branca é bem aceita pelos animais, porém, apesar dos seus aspectos positivos, a silagem de aveia ainda é pouco utilizada pelos produtores, devido às dificuldades durante a ensilagem, resultando na obtenção de um produto de menor qualidade (ZAMARCHI, 2013).

3.3 Processos fermentativos da silagem

A ensilagem é a conservação da forragem úmida por meio de um processo de fermentação que ocorre em meio anaeróbico (FONTANELI et al., 2012), onde carboidratos solúveis são convertidos em ácidos orgânicos (SANTOS; ZANINE, 2006). Durante a ensilagem ocorrem algumas reações até que a massa ensilada esteja adequada para o consumo. O objetivo inicial é reduzir a disponibilidade de oxigênio dentro do silo, a fim de proporcionar o ambiente anaeróbico para que os microrganismos possam agir sobre os carboidratos, promovendo a fermentação (LEHMEN, 2013).

A primeira fase da ensilagem é chamada de fase aeróbica, que ocorre desde o corte da planta até que se esgote o oxigênio, ou seja, até algumas horas após a vedação do silo. Nessa fase, os microrganismos aeróbios convertem os carboidratos solúveis da planta em CO₂, água e calor, além disso, as enzimas da própria forragem promovem a hidrólise do amido (SEGLAR, 2003). Durante a ensilagem, a retirada do ar ocorre pela compactação da forragem, que é influenciada entre outros fatores, pelo conteúdo de MS, portanto, o teor de MS da forragem que será ensilada deve estar entre 28 a 35%, sendo que, valores acima de 40% MS dificultam sua

compactação (COUTINHO, 2009) além do tempo de enchimento do silo, que deve ser o menor possível (TOMICH et al., 2003).

Após o esgotamento do oxigênio se inicia a fase de fermentação, onde as bactérias anaeróbias atuam sobre os carboidratos solúveis produzindo ácidos orgânicos (LANES et al., 2008). Dentre os microrganismos que participam da fermentação, as bactérias produtoras de ácido láctico são as principais, pois produzem grandes quantidades de ácido láctico, o qual promove a rápida queda do pH da massa ensilada (LEHMEN, 2013). Entre elas são frequentemente encontradas as do gênero *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Leuconostoc* (ELFERINK, et al., 2001).

Posterior a fermentação se dá início a fase de estabilidade, diminuindo a quantidade de bactérias ácido lácticas, onde sobrevivem alguns microrganismos tolerantes a acidez, porém em estado quase inativo (ELFERINK et al., 2001). Por fim há a fase de deterioração aeróbica, que ocorre no momento da abertura do silo para alimentação dos animais. Durante a abertura a silagem entra em contato com o oxigênio, favorecendo o crescimento de microrganismos aeróbios, que inicialmente consomem os carboidratos solúveis (BORREANI, 2018). Além disso, a atividade desses microrganismos produz calor, reduzindo a quantidade de nutrientes disponíveis da silagem (SEGLAR, 2003).

Durante a ensilagem podem ocorrer algumas perdas e as principais fontes de perda se dão pela respiração residual durante o enchimento do silo, tipo de fermentação dentro do silo, e devido a deterioração aeróbica durante a retirada de silagem para alimentação (SANTOS, ZANINE, 2006). No entanto, essas perdas podem ser reduzidas através da otimização de cada fase da ensilagem, além do uso de aditivos que são capazes de atuar diminuindo as perdas por deterioração (ELFERINK et al., 2001).

3.4 Inoculantes microbiano-enzimáticos

Quanto a prática de conservação de forragens, o uso de aditivos em silagens vem sendo bastante estudado há algumas décadas, com o objetivo de reduzir perdas, promover alterações no processo de fermentação e melhorar o valor nutricional da silagem (SCHMIDT et al., 2014). O interesse pelo uso de inoculantes se dá pelo fato de que, esses produtos demonstram maior segurança durante o processo fermentativo da silagem e se mostra eficiente para alimentação animal (KASPER et al., 2018).

Aditivos são produtos naturais ou industriais que são adicionados na massa de silagem e, segundo McDonald et al. (1991), existem cinco tipos de aditivos para silagem, sendo eles: aditivos estimulantes da fermentação, inibidores da fermentação indesejável, inibidores da

deterioração aeróbica, nutrientes e absorventes. Cada tipo de aditivo possui diferenças na sua propriedade, nível de eficácia, adequação para determinado tipo de cultura, tipo de aplicação e facilidade de manuseio, portanto, esses fatores devem ser levados em conta ao escolher o produto mais adequado (ELFERINK et al., 2001).

Grande parte dos aditivos para silagem possuem em sua composição a combinação de enzimas e bactérias (LALA et al., 2010). Os inoculantes microbianos são produtos que proporcionam um incremento na população de bactérias produtoras de ácido láctico, homofermentativas ou heterofermentativas (SANTOS, 2016). Os microrganismos presentes no primeiro grupo de bactérias são capazes de acelerar a queda do pH da silagem, além do aumento da produção de ácido láctico, enquanto as bactérias heterofermentativas podem produzir demais ácidos, capazes de aumentar a estabilidade aeróbica da silagem (SCHMIDT et al., 2014).

Segundo Kung (1998), as bactérias do ácido láctico mais comuns em inoculantes incluem: *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentacaceus*, and *Enterococcus faecium*, os inoculantes microbianos contém uma ou mais dessas bactérias em sua composição, as quais possuem alta habilidade de fermentação.

Por outro lado, os inoculantes que contém enzimas atuam no processo digestivo, favorecendo a digestibilidade dos nutrientes existentes na dieta (STIVARI et al., 2014). Os complexos enzimáticos mais conhecidos são os da família da celulase e hemicelulase, que podem melhorar a disponibilidade carboidratos para a fermentação da silagem e reduzir o teor de fibra da forragem (LALA et al., 2010).

Essas enzimas degradam a parede celular da planta à açúcares, substrato que aumenta o crescimento das bactérias fermentadoras da silagem, além dessas, outra enzima encontrada em inoculantes é a amilase, que degrada o amido em açúcares, também promovendo uma melhor atividade das bactérias fermentativas, que conseqüentemente podem aumentar a digestibilidade da silagem (YITBAREK; TAMIR, 2014). Ainda segundo Yitbarek e Tamir (2014), essas enzimas demonstram melhores resultados em forragens com baixo teor de lignina, como silagens de cereais e gramíneas de estação fria.

3.5 Cinética ruminal *in vitro*

O desempenho produtivo dos ruminantes, depende, dentre outros fatores, do aproveitamento dos alimentos por eles consumido, sendo assim, é fundamental o conhecimento dos componentes químico-bromatológicos de cada alimento e sua digestibilidade (OLIVEIRA et al., 2014), além disso, o conhecimento do comportamento dos alimentos durante a

degradação ruminal é de grande importância, pois permite uma melhor eficiência da dieta animal (JOBIM et al., 2011).

Existem diversas técnicas laboratoriais para avaliar os alimentos e estimar seu valor nutritivo. A técnica da produção de gases *in vitro* apresenta-se como uma das opções para descrever a cinética fermentativa dos alimentos (GOBBO, 2001). A cinética é descrita a partir das curvas da degradação das diferentes frações dos alimentos, relacionando a taxa e o tempo de digestão (MERTENS, 1977), que podem ser obtidas a partir de métodos *in vitro*.

O estudo da fermentação através de metodologias *in vitro*, tem como objetivo criar um ambiente que simule as condições do rúmen (MOULD et al., 2005). O método descrito por Theodorou et al. (1994), consiste basicamente na incubação do alimento em frascos de vidro hermeticamente fechados, onde ocorre o acúmulo de gases no espaço superior, entre o líquido ruminal e a tampa. Dessa forma, os resultados são determinados por meio do volume e da pressão que os gases provocam, à medida que o substrato é fermentado pelos microrganismos.

Tais microrganismos degradam e fermentam o alimento ingerido pelo animal e os convertem em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que serão utilizados como fonte de energia pelo ruminante (SOLÓRZANO, 2012), além disso, também são produzidos gases como o dióxido de carbono (CO_2) e metano (CH_4), subprodutos da fermentação que não são aproveitados pelo animal (OLIVEIRA et al., 2016). Os gases produzidos são utilizados como parâmetros para estimar a taxa de digestão dos alimentos e atuam como indicadores indiretos da cinética da fermentação (RYMER, 2005).

A cinética ruminal pode ser afetada pelo uso de inoculantes, uma vez que esses produtos têm por finalidade melhorar os aspectos fermentativos de silagens, implicando em maiores coeficientes de digestibilidade *in vitro* (RABELO et al., 2014). Porém, apesar dos possíveis resultados positivos quanto ao uso de inoculantes, ainda é necessário a realização de mais estudos com foco no modo de atuação desses microrganismos durante o processo de fermentação de silagens (MUCK et al., 2007).

Ao realizar a técnica de produção de gases *in vitro* é possível analisar diversos alimentos em um único experimento, obtendo dados relacionados a sua digestibilidade (GOBBO, 2001). No entanto, os procedimentos para a realização dessa técnica devem ser feitos corretamente, a fim de não comprometer os resultados finais. Alguns erros ao realizar a técnica são devido ao uso incorreto do inóculo e a dificuldade em simular o ambiente ruminal de maneira precisa (MUNIZ, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Confeção da silagem

O experimento foi conduzido em uma área localizada na fazenda experimental pertencente a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Dois Vizinhos/PR. Foi utilizada uma área de 2 hectares para implantação da aveia branca, da cultivar URS Flete, a qual foi implantada sob sistema de semeadura direta, com 100 kg de sementes por hectares, no mês de maio de 2019. O solo é caracterizado como Nitossolo Vermelho Distroférico (BHERING et al., 2007) e a região é caracterizada pelo clima subtropical úmido mesotérmico (Cfa) segundo a classificação climatológica de Köppen (ÁLVARES et al., 2013).

O corte da aveia foi feito a 10 cm do solo e a ensilagem foi realizada com a planta inteira, em duas datas diferentes, a primeira no mês de julho de 2019 e a segunda no mês de agosto de 2019, com o teor de 23% de matéria seca (MS) e 28% MS, respectivamente. A aveia foi ensilada em microsilos de PVC com altura de 45 cm, circunferência de 33 cm e diâmetro 10 cm com capacidade de 2,7 kg MV, onde a densidade média de compactação foi de 771 kg MV/m³. O aditivo microbiano-enzimático foi misturado à medida que a aveia foi colocada nos microsilos, realizando uma boa homogeneização junto ao material triturado. Foram utilizados cinco tratamentos diferentes, com diferentes níveis (0, 500, 1000, 1500 e 2000 mg/kg MV) de aditivo.

O aditivo é composto por soro seco (6%), maltodextrina (15%), amilase (10%), protease (15%), celulase (15%), lipase (15%), pectinase (15%), lactobacilos acidophilus (3%), bifidobacterium thermophilum (2%), bifidobacterium longum (2%) e estreptococcus faecium (2%). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 2 épocas de corte e 4 repetições cada. A abertura dos microsilos ocorreu após 42 dias de fermentação, posteriormente realizou-se a secagem de uma amostra em estufa com ventilação forçada de ar a 55 °C por 72 horas e essa amostra foi moída em moinho tipo Wiley em peneira de crivo de 1mm, para então proceder com a incubação do material para análise *in vitro*. Foi retirada uma amostra para a análise da composição bromatológica dessa silagem (Tabela 1).

Tabela 1. Composição nutricional de silagens de aveia branca em diferentes datas de corte inoculadas com aditivo microbiano-enzimático.

Data da colheita	16/07/2019					01/08/2019					P value			
	Doses do inoculante (g t ⁻¹ MV)		0	500	1.000	1.500	2.000	0	500	1.000	1.500	2.000	Data	Doses
<i>Variáveis</i>														
Matéria seca (g kg ⁻¹)	231,90	233,52	253,10	252,87	216,62	259,97	288,40	288,25	279,90	281,65	0,0001	0,0310	0,1088	
PH	4,73	4,94	4,89	4,89	4,93	4,96	4,96	4,94	4,94	5,01	0,0486	0,4856	0,5672	
Tampão (meq NaOH/100gMS)	269,33	271,25	268,75	265,75	178,14	123,50	123,25	119,00	116,75	116,50	0,0001	0,7189	0,8260	
Nitrogênio amoniacal (g kg ⁻¹ NT)	54,23	61,07	52,92	58,07	50,27	65,67	52,55	64,42	54,67	49,82	0,5878	0,4305	0,3070	
RMS (g kg ⁻¹ MS)	944,60	954,40	939,20	939,43	910,56	924,80	926,35	920,50	865,55	877,80	0,0140	0,1173	0,6299	
Perda por efluente (kg t ⁻¹ MV)	13,70	11,96	11,46	13,48	7,82	12,40	11,07	12,64	10,79	9,14	0,5787	0,5787	0,5787	
Perda por gases (g kg ⁻¹ MS)	54,80	45,03	60,33	59,96	88,93	74,72	73,25	79,07	134,04	121,87	0,0318	0,2768	0,8903	
Lactato (ppm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Acetato (ppm)	35,33	28,23	27,36	30,50	31,82	37,61	28,62	32,06	27,12	33,78	0,5213	0,0340	0,6130	
Propionato (ppm)	20,80	24,57	22,78	25,52	23,84	23,77	26,48	16,19	20,09	23,26	0,3767	0,3748	0,3926	
Butirato (ppm)	18,53	16,04	15,09	17,73	16,77	24,12	19,79	16,28	18,33	22,50	0,0187	0,1230	0,7118	
Matéria mineral (g kg ⁻¹ MS)	130,85	122,78	125,12	124,48	143,85	147,38	145,41	140,76	147,48	149,40	0,0001	0,0745	0,3913	
Proteína bruta (g kg ⁻¹ MS)	169,15	163,72	172,18	166,85	265,28	140,53	142,00	140,73	140,82	144,35	0,4264	0,4264	0,4264	
Açúcares solúveis (g/kg MS)	19,93	19,45	22,25	20,22	48,82	30,52	30,70	27,87	25,92	26,82	0,1447	0,4189	0,4189	
Amido (g kg ⁻¹ MS)	16,92	16,94	16,50	17,32	11,89	15,99	16,89	16,34	17,85	16,68	0,6458	0,8306	0,8649	
FDN (g kg ⁻¹ MS)	501,76	530,32	490,82	526,05	457,50	537,17	546,27	530,52	552,90	539,27	0,0189	0,4015	0,6923	
FDA (g kg ⁻¹ MS)	257,26	298,55	288,37	294,50	229,54	254,05	267,55	264,77	269,92	256,65	0,3763	0,3875	0,7014	
Lignina (g kg ⁻¹ MS)	81,13	68,07	67,05	69,84	60,95	68,16	66,85	56,86	70,60	60,67	0,4499	0,6316	0,9422	
Hemicelulose (g kg ⁻¹ MS)	22,65	23,17	20,24	23,15	22,79	28,31	27,87	26,57	28,29	28,26	0,0001	0,2670	0,9247	
Celulose (g kg ⁻¹ MS)	19,41	23,05	21,83	22,46	15,51	19,97	20,06	20,79	19,93	19,59	0,9378	0,7036	0,8050	

4.2 Cinética ruminal *in vitro*

O preparo das soluções para o meio de cultura foi realizado conforme Goering e Van Soest (1970). Após o preparo das soluções, foi utilizado para o meio de cultura a adição de 2 g de tripticase peptone em 400 mL água, e 0,1 mL de solução micromineral, agitando até dissolver. Em seguida, acrescentou-se 200 mL da solução tampão, 200 mL da solução macromineral, 1 mL da solução de resazurina e por fim 40 mL da solução de redução. Após a homogeneização dessa solução, a mesma foi colocada em banho-maria à temperatura de 39° com o CO₂ sob aspersão até a redução, ou seja, até que a cor mude de roxa para transparente, sendo este, um indicador de que não há presença de O₂ no meio, obtendo-se um ambiente totalmente anaeróbico. Após esse processo, iniciou-se a coleta do inóculo.

O inóculo foi coletado de dois bovinos machos castrados, da raça Jersey, fistulados no rúmen. Para a coleta do inóculo, segundo Abreu et al. (2014), foi utilizada uma garrafa de gás CO₂, uma garrafa térmica para armazenar o líquido ruminal e outra para a ingesta fibrosa e panos de algodão para filtrar o material. A quantidade de inóculo necessária foi preparada de acordo com a metodologia descrita por Goering e Van Soest (1970) que recomenda 10 mL para cada frasco incubado. Foram utilizados frascos de penicilina na cor âmbar de 100 mL os quais foram vedados com tampas de borracha e lacres de alumínio. Em cada frasco foram incubados 0,5 g de amostra parcialmente seca e adicionado 50 mL do meio de incubação.

O dispositivo não automatizado utilizado para mensurar a produção de gás é semelhante ao utilizado por Malafaia et al. (1998) com algumas alterações (ABREU et al., 2014). As leituras de pressão e de volume foram expressas em mL/0.1 g MO, e realizadas a 1, 2, 3, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 72, 96, 120 e 144 horas após material incubado.

4.3 Análises estatísticas

Os parâmetros da cinética de degradação ruminal *in vitro* avaliados foram: tempo de latência (lag time), volume de gás acumulado e taxa de degradação. Os parâmetros foram estimados através do procedimento de modelos não lineares (proc. NLin), utilizando modelo matemático unicompartimental descrito por Mc Donald (1981) e Theodorou et al. (1994).

$$V(t) = vf[1 - e^{-k(t-l)}]; \text{ onde:}$$

$V(t)$ = volume acumulado no tempo t referente a cada horário de leitura (ml);

V_f = volume acumulado final de gás (ml);

e = expoente (base do logaritmo);

k = taxa de degradação (ml/h);

t = tempo de degradação (h)

l = tempo de latência (h);

Para a obtenção da curva, os dados foram estimados através do pacote Excel[®], onde foi levado em consideração a regressão entre horário de leitura e volume de gás acumulado (ml/0.1 g de MO) em cada horário.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de gás é oriunda do processo de fermentação que o alimento sofre no rúmen (modelo *in vitro*), por meio da ação de microrganismos ruminais. Nota-se crescimento exponencial máximo nas primeiras horas de incubação, com volume máximo de produção de gás as 144 horas de incubação, sendo esse comportamento semelhante para todas as doses de aditivo aplicadas (Figuras 1 e 2), nos diferentes teores de MS, e a partir das 72 horas de incubação percebe-se pouco acúmulo de gás em relação aos horários anteriores. Não houve tempo de latência entre o início da incubação e a degradação ruminal *in vitro*.

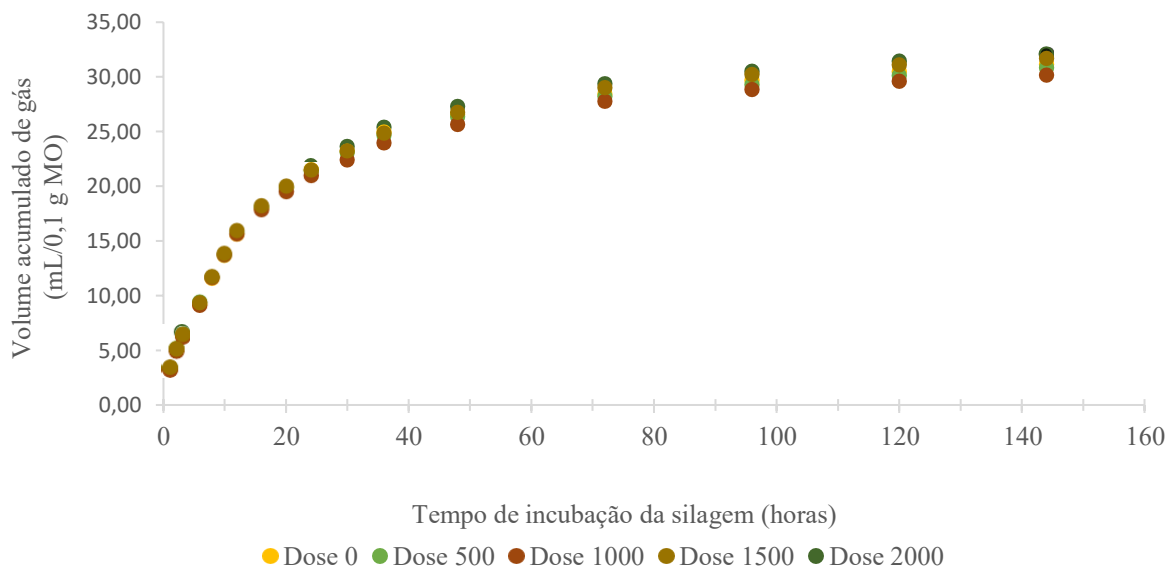


Figura 1: Curva de degradação ruminal *in vitro* de silagem de aveia branca com 23% MS inoculadas com diferentes doses de aditivo microbiano-enzimático.

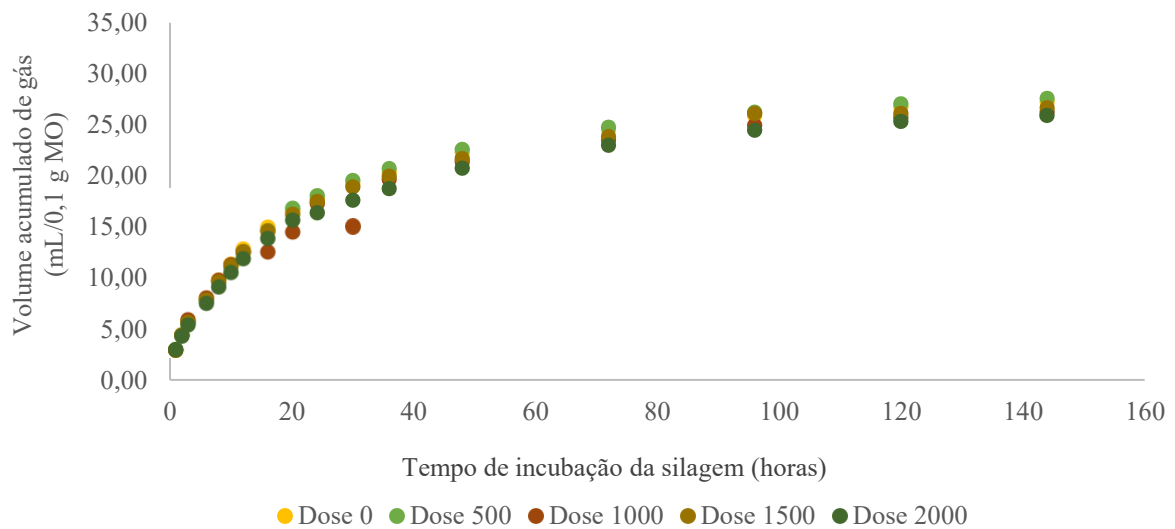


Figura 2: Curva de degradação ruminal *in vitro* de silagem de aveia branca com 28% MS inoculadas com diferentes doses de aditivo microbiano-enzimático.

Para as datas de corte da silagem houve efeito significativo aonde maior produção de gás ocorreu na primeira data de corte (Tabela 1), momento em que a aveia ainda estava em sua fase vegetativa. Quimicamente, as forragens são compostas por carboidratos estruturais, que englobam os compostos da parede celular da planta, e carboidratos não estruturais que estão presentes no conteúdo celular, incluindo açúcares e amido (LEHMEN, 2013). Na sua fase vegetativa a aveia possui menor quantidade de carboidratos estruturais e maior concentração de açúcares, que sofrem rápida ação dos microrganismos ruminais.

Os carboidratos estruturais por sua vez, são avaliados em termos de fibra, que compreende a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) onde está contido a porção de celulose, hemicelulose e lignina e a fibra insolúvel em detergente ácido (FDA), composta por lignina e celulose. Ao analisar a composição nutricional dessa silagem (Tabela 1), observa-se que na primeira data de corte onde ocorreu maiores produção de gás foi aonde a aveia apresentou seus menores teores de FDN, sendo explicada a maior produção de gás por esse motivo.

Tabela 2. Parâmetros da produção de gás ruminal *in vitro* de silagens de aveia branca em diferentes períodos de colheita inoculadas com diferentes doses de aditivo microbiano enzimático.

Data de colheita 16/07/2019			
Tratamento	Vf (mL/0,1 g MO)	K (mL/0,1 g MO/hora)	Tempo ½ (h)
0	28,5	0,0413	16,8
500	28,09	0,0428	16,19
1000	27,51	0,0431	16,19
1500	28,89	0,0408	16,97
2000	29,66	0,0377	19,06
Média	28,53	0,04114	17,042
Data de colheita 01/08/2019			
Tratamento	Vf (mL/0,1 g MO)	K (mL/0,1 g MO/hora)	Tempo ½ (h)
0	24,74	0,0379	18,42
500	25,15	0,0367	18,92
1000	23,59	0,0392	17,77
1500	24,28	0,0383	18,15
2000	23,35	0,0365	19,06
Média	24,22	0,03772	18,464
P value			
Variáveis	Data	Doses	Data*Doses
Vf (mL/0,1 g MO)	<0,0001	0,6971	0,0814
00	0,0001	0,0462	0,458
Tempo ½ (h)	0,0005	0,0242	0,289

Parâmetros da produção de gás ruminal *in vitro*: Vf: volume máximo de gás produzido pela degradação da fração solúvel de rápida digestão (mL/0,1 g de MS); K: taxa de produção de gás (mL/0,1 g MO/hora); Tempo de ½: tempo de meia vida (h). Valor de P \leq 0,05 apresenta valor significativo pelo teste de tukey a 95% de significância.

Quanto as diferentes doses de aditivo utilizadas, houve efeito sobre a taxa de produção de gás (K) *in vitro* e o tempo meia vida (Tempo ½ h) (Tabela 1). A partir da equação de regressão obteve-se um comportamento quadrático decrescente para a taxa de produção de gás (Figura 3), e crescente para o tempo meia vida (Figura 4). Durante a fermentação do material ensilado é esperado que a fermentação por bactérias homofermentativas dominem esse processo, pois a conversão de glicose a ácido lático nesse caso é mais eficiente e gera menos perdas de MS e de energia, em comparação com as fermentações acética, propiônica e butírica, por exemplo (KUNG; STOKES; LIN, 2003).

Ao analisar a composição da silagem de aveia (Tabela 1) observa-se que a adição do aditivo sobre a massa ensilada teve efeito sobre a fermentação acética da silagem. Uma produção controlada de acetato resulta em menores perdas de MS e conseqüentemente maior conteúdo para sofrer ação dos microrganismos do ruminais, diante disso pode-se afirmar que a taxa de produção de gás e o tempo de meia vida foram influenciados pela produção deste ácido orgânico da silagem de aveia, uma vez que o aditivo pode ter proporcionado um uma fermentação mais eficiente, como dito acima, resultando em maiores taxas de produção de gás

e menor tempo de meia vida.

De acordo com a equação de regressão, a maior taxa de produção de gás *in vitro* poderia ser obtida com a dose de 774,43 kg/t⁻¹ MV de inoculante, e o menor tempo de meia vida com a dose de 756,30 kg/t⁻¹ MV do inoculante.

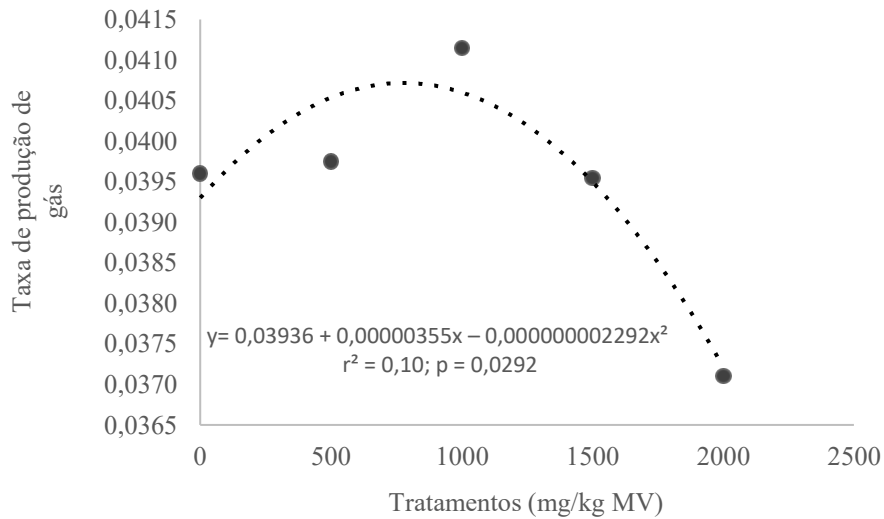


Figura 3: Taxas de produção de gás *in vitro* de silagens de aveia branca inoculadas com aditivo microbiano-enzimático.

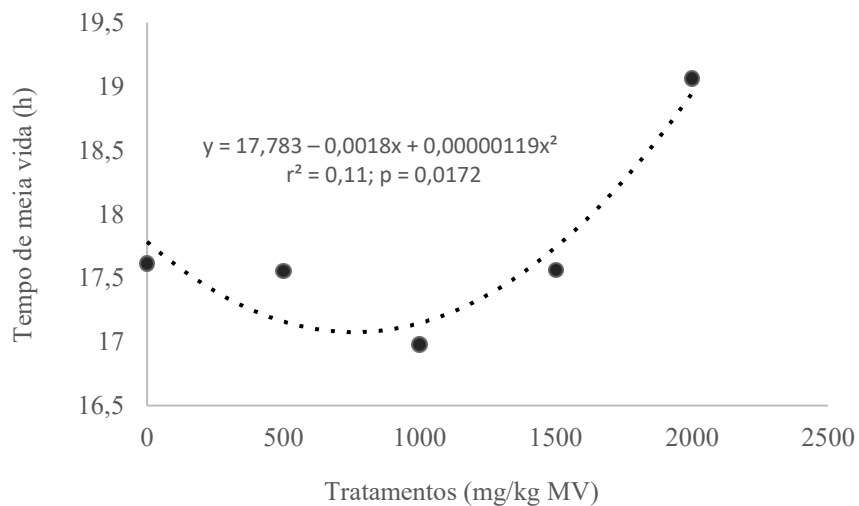


Figura 4: Tempo de meia vida de silagens de aveia branca inoculadas com aditivo microbiano-enzimático.

6 CONCLUSÃO

A silagem de aveia branca com 23% MS apresentou maior volume de produção de gás *in vitro*.

A adição do inoculante microbiano-enzimático aumentou a taxa de produção de gás *in vitro* e diminuiu o tempo de meia vida das silagens.

A maior taxa de produção de gás *in vitro* e menor tempo de meia vida das silagens poderiam ser obtidos com as doses de 774,43 kg/t⁻¹ MV e 756,30 kg/t⁻¹ MV do inoculante, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de M.; SPAROVEK, G. **Köppen's climate classification map for Brazil**. *Meteorologische Zeitschrift*, v.22, p.711-728. 2013.
- ABREU, M. L. C. et al. Clitoria ternatea L. as a potential high quality forage legume. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, v. 27, n.02, p. 169-178, 2014.
- BATTISTI, G. K. **Aspectos genéticos e ecofisiológicos de genótipos de aveia direcionadas à produção animal e cobertura de solo**. Monografia (trabalho de conclusão de curso) - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, RS. 51 f. 2012.
- BHERING, S. B.; SANTOS, H. G. dos; et al. **Mapa de solos Estado do Paraná: legenda atualizada**. Embrapa Solos. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Florestas, Colombo, PR, 74 p. 2007.
- BOIN, C., et al. Composição e digestibilidade de silagens de aveia branca produzidas em quatro estádios de maturação. *Boletim de Indústria animal*, Nova Odessa, v. 62, n. 1, p. 35-43, 2005.
- BORREANI, G. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 5, p. 3952-3979, 2018.
- CABRAL, L.S., et al. Cinética ruminal das frações de carboidratos, produção de gás, digestibilidade in vitro da matéria seca e NDT estimado da silagem de milho com diferentes proporções de grãos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p.2332-2339, 2002.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos**. Décimo segundo levantamento, setembro 2020 - safra 2019/20 v. 7. n. 12.
- COPETTI, T.S. **Propriedades de silagem de aveia branca (Avena sativa): diferenciando cultivares, inoculantes e épocas de corte**. Monografia (trabalho de conclusão de curso) - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, RS. 48 f. 2017.
- COUTINHO, H. S. **Silagens de milho e sorgo tratadas com inoculante microbiano à base de bactérias homo e heteroláticas**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 36 f. 2009.
- ELFERINK O., et al. Silage fermentation processes and their manipulation. *FAO Plant Production and Protection Papers*. 28 p. 2001.
- EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. **Aditivos para silagem**. Lavras: Editora UFLA, 1999. 17p. (UFLA. Boletim de extensão, 88).
- FLOSS, E. L., et al. Crescimento, produtividade, caracterização e composição química da aveia branca. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, vol. 29, núm. 1, p. 1-7, 2007.
- FONTANELI, R. S. **FORAGEIRAS PARA INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA-FLORESTA NA REGIÃO SUL-BRASILEIRA**. 2ª ed. Brasília, DF: Embrapa Trigo, 2012. Cap. 13, p. 351-365.
- GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis. *Agricultural handbook*, n.379.

U.S.D.A., Washington, 1970.

GOBBO, S. P. **Comparações entre procedimentos laboratoriais das técnicas de produção de gases e incorporação de radiofósforo pelos microrganismos na avaliação *in vitro* de alimentos para ruminantes.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 60 f. 2001.

JOBIM, C. C. Cinética de degradação ruminal dos fenos de alfafa e Tifton-85 e da silagem de milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 747-757, 2011.

JOHNE, J. **Avaliação de cultivares de aveia branca para produção de silagem.** Monografia (trabalho de conclusão de curso) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, RS. 22 f. 2015.

KASPER, N. F. et al. Utilização de inculuantes micro-enzimáticos altera teores bromatológicos de silagens de sorgo. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 10, n. 2, 3 mar. 2020.

KUNG, L. J. **A review on silage additives and enzymes.** Department of Animal and Food Sciences, University of Delaware, 1998.

KUNG, L., STOKES, M., LIN, C. J. Silage Additives. In: Buxton, D. R., Muck, R. E., Harrison, J. H. (Ed.). **Silage science and technology.** American Society of Agronomy, 2003. p.305-360.

LALA, B. et al. **Aditivos no processo de ensilagem.** **BIOENG**, Maringá – PR, v. 4, n. 3, p.175-183, dez. 2010

LANES, M. et al. Como evitar perdas na ensilagem do milho. **Revista Eletrônica de Veterinária.** Vol. 9 n. 5. p. 1-12, 2008.

LEHMEN, R. I. **Silagens de cereais de inverno: variabilidade inter e intraespecífica quanto ao rendimento e valor nutritivo.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, RS. 61 f. 2013.

MALAFAIA, P.A. M. et al. Cinética Ruminal de Alguns Alimentos Investigada por Técnicas Gravimétricas e Metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v.27, n.2, p.370-380, 1998.

MAZURKIEVICZ, G. **O desempenho forrageiro de cultivares de aveia e a proposição de combinações para elevada produtividade com adaptabilidade e estabilidade.** Monografia (trabalho de conclusão de curso) - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, RS. 43 f. 2014.

McDONALD, P., et al. **The biochemistry of silage.** 2ed. Chalcombe Publications, Bucks, England. 1991.

McDONALD, I. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v.96, p.251-256, 1981.

MERTENS, D. R. **Dietary fiber components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. Federation Proceedings**, v.36, n.2, p.182-192, 1977.

MOULD, F.L. et al. In vitro microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, n.2005, p.31-50, 2005.

MUCK, R. E. et al., Inoculant effects on alfalfa silage: In vitro gas and volatile fatty acid production. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.11, p.5115- 5125, 2007.

MUNIZ, E.B. et al. Cinética de degradação ruminal de carboidratos de volumosos secos e aquosos: técnica de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n.3, p. 1191-1200, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle. Updated 7ed.** National Academy Press, p.242, 2001.

OLIVEIRA, V. S., et al. Utilização da técnica de produção de gás *in vitro* para estimar a digestibilidade dos alimentos. **Revista científica de medicina veterinária**. n. 23, p. 1-11, 2014.

OLIVEIRA, V. S.; et al. Carboidratos fibrosos e não fibrosos na dieta de ruminantes e seus efeitos sobre a microbiota ruminal. **Vet. Not.**, v.22, n. 2, p.1-18, 2016.

PRIMAVESI, A.C. et al. **Recomendações técnicas para o cultivo de aveia**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, boletim de pesquisa n. 6, 2000, 39p.

RABELO, S. et al. Silagens de milho inoculadas microbiologicamente em diferentes estádios de maturidade: perdas fermentativas, composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* **Ciência Rural**, v. 44, n. 2, p. 368-373, 2014.

REIS, R.A., MOREIRA, A.L. **Conservação de forragem como estratégia para otimizar o manejo das pastagens**. In: Anais ZOOTEC 2001. Goiânia: Sebrae, 2001, 213 p.

RYMER, C. et al. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, n. 1, p. 9-30, 2005.

SANTOS, A. O. **Caracterização de silagens de milho produzidas em minas gerais e caracterização metabólica e genotípica de bactérias do ácido láctico isoladas dessas silagens**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 137 f. 2016.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. M. Silagem de Gramíneas Tropicais. **Colloquium Agrariae**, v. 2, n.1. p. 32-45, 2006.

SCHMIDT, P., et al. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar? **In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.; BANKUTI, F.I (eds.), Simpósio: produção e utilização de forragens conservadas, 5.ed., Maringá, 2014. Anais...** Maringá: UEM, p. 243-264. 2014.

SEGLAR, B. Fermentation analysis and silage quality testing. **Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference**. College of Veterinary Medicine - University of Minnesota, 2003. 18 p.

SILVEIRA, A. P. **Valor nutritivo de forrageiras de inverno e produção de silagem pré-secada**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR. 69f. 2015.

SOLÓRZANO, L. A. R. **Efeitos de fontes energéticas sobre a fermentação ruminal, produção de metano determinada pela técnica do gás traçador SF₆, digestibilidade aparente total e excreção de nutrientes em bovinos**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP. 121 f. 2012.

STIVARI, T. S. S. et al. Aditivos enzimáticos na alimentação de ruminantes: estratégia para a produção animal. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 11, ed. 260, Art. 1728, junho, 2014.

SUN, Z. H. et al. Effects of cellulase or lactic acid bacteria on silage fermentation and *in vitro* gas production of several morphological fractions of maize stover. **Animal Feed Science and Technology**, v.152, n. 3, p. 219-231, 2009.

THEODOROU, M.K., et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feed. **Animal Feed Science Technology**., v.48, n.1, p.185-197, 1994.

TOMICH, T. R., et al. **Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: Uma proposta para qualificação da fermentação**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003, 20p.

YITBAREK, M.B.; TAMIR, B. Silage Additives: Review. **Open Journal of Applied Sciences**, v. 4, n. 5, p. 258-274, 2014.

ZAMARCHI, G. **Composição bromatológica de silagem de aveia submetida à adubação nitrogenada e estádios fenológicos de ensilagem**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR. 64 f. 2013.