

**A qualidade das silagens de milho (*Zea mays* L.) e azevém Italiano (*Lolium multiflorum* Lam.) e a sua influência na composição do leite: Um caso de estudo**

**Luísa Carolina Bettencourt Silva**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Zootécnica – Produção Animal**

Orientadores: Professor Doutor João Pedro Bengala Freire

Professora Doutora Maria Odete Pereira Torres

**Júri:**

Presidente: Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutor João Pedro Bengala Freire, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutor João Pedro da Costa Cardoso de Lemos, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

## **Agradecimentos**

Dirijo o meu agradecimento ao Professor Doutor João Pedro Bengala Freire por ter possibilitado a realização deste trabalho sobre vacas leiteiras e por toda a disponibilidade e orientação ao longo dos últimos meses.

Um muito obrigado à Professora Doutora Maria Odete Torres, pelos conhecimentos disponibilizados, pela dedicação, amizade e incentivo incondicional.

Dirijo-me também à Professora Doutora Luísa Falcão e Cunha pela disponibilidade de conhecimentos e auxílio na estimação do valor nutritivo das silagens.

Agradeço ao Sr. Engenheiro António Castanheira e ao Sr. Alexandre Arriaga e Cunha por me terem recebido e orientado na exploração e pelos conhecimentos transmitidos. Agradeço também à Engenheira Margarita e a todos os trabalhadores do casal de Quintanelas, por toda a ajuda disponibilizada.

Não posso deixar de agradecer à Engenheira Cátia e à Engenheira Ana por toda a amizade, disponibilidade e apoio no laboratório, sem elas não seria possível realizar todo o trabalho laboratorial.

Agradeço especialmente aos meus pais. Ao meu pai, por ser a minha grande inspiração e a razão pela qual estou nesta área e à minha mãe por fazer com que tudo seja possível. Obrigada mãe e Marília por sempre me terem apoiado e encorajado, desde o primeiro momento, por terem ouvido muitas queixas e terem dado muitos conselhos.

Ao Tomás, por ter tornado tudo mais fácil, obrigado pelo apoio e carinho demonstrado.

Aos meus amigos, que fizeram com que estes fossem os melhores anos da minha vida. Obrigado por estarem sempre presentes.

Não esquecendo da Dona Fátima e do Sr. Eurico por serem uns queridos e por me terem ajudado nesta última etapa.

Muito obrigado a todos!

## Resumo

A alimentação animal é um fator determinante nas explorações de bovinos leiteiros, a nível económico e produtivo, influenciando conseqüentemente o produto final quantitativa e qualitativamente.

Em Portugal, esta alimentação baseia-se na utilização de pastagens e silagens, principalmente de milho (*Zea mays* L.) e erva. Assim, foram estudadas as silagens de milho e de azevém Italiano (*Lolium multiflorum* Lam.) com o intuito de avaliar a sua qualidade e o efeito da respetiva incorporação na alimentação das vacas leiteiras sobre a composição do leite.

O estudo foi realizado na exploração Casal de Quintanelas, utilizando três silos de milho e três de azevém com recolhas semanais, aferindo a sua qualidade a nível de composição química, valor nutritivo e produção de gás.

As silagens apresentaram com composição química adequadas sendo a média destes de 31% de MS, 7,2% de PB, 51,3 %NDF e 3,45 N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total na silagem de milho e de 31% MS, 8,7% PB, 59,5% NDF e 3,11 N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total na silagem de azevém. A silagem de milho demonstrou maior valor nutritivo e degradabilidade no rúmen relativamente à silagem de azevém. Não foi observado efeito das diferentes silagens incorporadas na alimentação das vacas leiteiras sobre a composição do leite.

Palavras-chave: Qualidade da silagem, milho (*Zea mays* L.), azevém Italiano (*Lolium multiflorum* Lam), composição do leite.

## Abstract

Animal feed is a determining factor of animal production that has influence in quality and milk composition, with consequences in animal productivity and farm's costs.

In Portugal, diets of dairy cows are based on utilization of pastures and silages, mainly corn silage (*Zea mays* L.) and grass silage. Because of that importance the quality of corn and Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) silage were evaluated and the effect of its incorporation in dairy cows diets in milk production and composition.

The study was carried out in Casal de Quintanelas farm, using silages from three silos of corn and ryegrass silage with weekly collections each other, their quality in terms of chemical composition, nutritional value and gas production was evaluated. Both silages presented adequate chemical composition, corn silage has 31% of DM, 7,2% CP, 51,3 %NDF and 3,45 N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total and ryegrass has 31% of DM, 8,7% CP, 59,5% NDF and 3,11 N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total. Corn silage showed higher nutritive value and rumen degradability when compared with ryegrass silage. No effect of the different silages incorporated in the feeding of the dairy cows on the milk production and composition was observed.

Key-words: Silage quality, corn (*Zea mays* L.), Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.), milk production, milk composition .

# Índice

Agradecimentos .....	II
Resumo.....	III
Abstract.....	IV
Índice .....	V
Índice de figuras.....	VIII
Índice de quadros.....	IX
Lista de abreviaturas .....	XI
Espécies botânicas referidas.....	XII
1. Introdução .....	1
2. A Silagem na alimentação animal.....	3
2.1 Considerações gerais .....	3
2.2 Ensilagem.....	3
2.2.1 Fase aeróbia .....	4
2.2.2 Fase fermentativa.....	5
2.2.3 Fase estável.....	7
2.2.4 Fase de utilização, ou de abertura do silo .....	8
2.3 Perdas durante o processo de ensilagem .....	8
2.3.1 Perdas por respiração .....	9
2.3.2 Perdas por fermentação .....	10
2.3.3 Perdas por oxidação.....	10
2.3.4 Perdas por efluentes .....	11
2.3.5 Considerações práticas .....	12
2.4. Utilização de aditivos .....	13
2.5. Qualidade das silagens.....	14
2.5.1 Composição química das silagens de milho e de azevém.....	15
2.5.2. Valor nutritivo das silagens.....	20
2.5.3 Produção de gás <i>in vitro</i> .....	22

2.5.4	Conservação das silagens.....	23
2.6.	Produção de leite.....	25
2.6.1	A influência das silagens na produção e composição do leite .....	26
2.6.1.1	Teor de gordura.....	27
2.6.1.2	Teor de proteína .....	28
2.6.2	Sistema de classificação do leite .....	30
3.	Material e métodos.....	31
3.1	Caracterização da exploração.....	31
3.1.1	Genética dos animais .....	31
3.1.2	Alimentação dos animais.....	32
3.2	Colheita de amostras de silagem, feno-silagem e de leite.....	33
3.2.1.	Silagem .....	33
3.2.2	Feno-silagem.....	34
3.2.3	Leite .....	34
3.3	Análises laboratoriais realizadas nas amostras de silagem.....	34
3.3.1.	Matéria seca e cinza .....	34
3.3.2.	Proteína bruta .....	35
3.3.3.	Constituintes parietais.....	35
3.3.4.	pH.....	35
3.3.5.	Azoto amoniacal.....	35
3.3.6.	Produção de gás <i>in vitro</i> .....	35
3.3.7.	Estimativa do valor energético e azotado das silagens .....	36
3.4.	Análises realizadas à feno-silagem .....	37
3.5.	Análises laboratoriais realizadas nas amostras de leite.....	37
3.6.	Análise estatística .....	38
4.	Resultados .....	39
4.1	Composição química das silagens de milho e azevém .....	39
4.2.	Valor nutritivo das silagens de milho e azevém.....	46
4.3.	Produção de gás com as silagens de milho e azevém .....	49
4.4.	Composição química da feno-silagem de azevém .....	54

4.5.	Composição química do leite .....	55
5.	Discussão de resultados .....	57
5.2.	Composição química da silagem de milho .....	57
5.3.	Composição química da silagem de azevém .....	58
5.4.	Comparação da composição química da silagem de milho e da silagem de azevém 59	
5.5.	Valor nutritivo da silagem de milho.....	60
5.6.	Valor nutritivo da silagem de azevém.....	61
5.7.	Comparação do valor nutritivo da silagem de milho e de azevém .....	61
5.8.	Produção de gás <i>in vitro</i> .....	63
5.9.	Produção de leite .....	63
6.	Conclusões .....	65
7.	Referências bibliográficas .....	66

## Índice de figuras

Figura 1 - Fases da fermentação normal da silagem (Penn State, 2004) .....	7
Figura 2 - Fatores que afetam as perdas na silagem por instabilidade aeróbia (Pahlow e Muck, 2009, cit in Wilkinson e Davies, 2012)Aditivos.....	9
Figura 3 - Variação das perdas por efluentes com base na MS (Bastiman e Altman, 1977, cit in Frame, 1992).....	11
Figura 4 - Variação das perdas por efluentes no silo (Bastiman, 1977, cit in Frame, 1992)..	12
Figura 5 - Cruzamento genético dos animais da exploração .....	32
Figura 6- Silagem de milho (a) e silagem de azevém (b).....	33
Figura 7 - Volume de produção de gás do silo 1 de milho na incubação 1 .....	50
Figura 8 - Volume de produção de gás do silo 1 de azevém na incubação 1 .....	50
Figura 9 - Volume de produção de gás do silo 2 de milho na incubação 2 .....	51
Figura 10 - Volume de produção de gás do silo 2 de azevém na incubação 2 .....	52
Figura 11 - Teor de PB e N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> %/N total das silagens de milho e azevém de acordo com os silos estudados.....	59
Figura 12 - Composição de NDF e ADF das silagens de milho e de azevém consoante os silos analisados.....	60
Figura 13 - Comparação do valor energético das silagens de milho azevém em função dos silos analisados.....	62
Figura 14 - Valor nutritivo das silagens de milho e de azevém em função dos silos.....	62

## Índice de quadros

Quadro 1 - Classificação dos aditivos utilizados nas silagens. Modificado de Woolford, 1984, cit in Holzer <i>et al.</i> (2003) e McDonalds <i>et al.</i> (1991), cit in Santos <i>et al.</i> (2008). ....	13
Quadro 2 - Valores de referência da composição química e pH das silagens de milho e azevém .....	17
Quadro 3 - Composição química de características fermentativas das culturas e respectivas silagens de milho e de azevém italiano .....	18
Quadro 4 - Composição química da silagem de milho com aditivos, 90 dias após ensilado (Filya e Sucu, 2010) .....	19
Quadro 5 - Composição química da silagem de milho inoculada com 8 aditivos diferentes, após 120 dias de fermentação (Queiroz <i>et al.</i> , 2013). ....	20
Quadro 6 - Valor energético e proteico da silagem de milho (FEDNA, 2004) .....	21
Quadro 7 - Valor energético e proteico da silagem de azevém (FEDNA, 2004) .....	22
Quadro 8 - Relação entre o pH e o teor de matéria seca das silagens. Adaptado de Dulphy e Dermaquilly (1981) e ITCF (1978) .....	24
Quadro 9 - Relação entre a qualidade das silagens e as características fermentativas (Bjorge, 1996, cit in Martinez e Saldaña, 1998) .....	24
Quadro 10 - Concentração de N amoniacal e solúvel na silagem segundo parâmetros de qualidade. Dulphy e Dermaquilly, (1981).....	25
Quadro 11 - Fórmulas de cálculo do valor energético das silagens de milho e de azevém (INRA, 2007) .....	36
Quadro 12 - Fórmulas de cálculo do valor azotado das silagens de milho e de azevém (INRA, 2007).....	37
Quadro 13 - Composição química e pH da silagem de milho em função do silo e da data de recolha .....	39
Quadro 14 - Matriz de correlação entre a composição química e pH da silagem de milho ...	41
Quadro 15 - Composição química e pH da silagem de azevém em função do silo e da recolha .....	42
Quadro 16 - Valor relativo da forragem (1)de azevém .....	43
Quadro 17 - Matriz de correlação entre a composição química e o pH da silagem de azevém .....	43
Quadro 18 - Comparação da composição química e pH da silagem de milho e de azevém em função do silo .....	44
Quadro 19- Valor nutritivo da silagem de milho em função do silo e da data de recolha .....	46
Quadro 20- Valor nutritivo da silagem de Azevém em função do silo e da data de recolha .....	47

Quadro 21- Comparação do valor nutritivo da silagem de milho e de azevém em função do silo .....	48
Quadro 22 - Modelação da produção de gás da silagem de milho e de azevém retirados no início e no fim do silo 1 .....	49
Quadro 23- Modelação da produção de gás da silagem de milho e de azevém retirados no início e fim do silo 2.....	51
Quadro 25 - Parâmetros da produção de gás em função do silo, data de recolha e tipo de silagem.....	53
Quadro 26 - Composição química da feno-silagem em função da data da recolha, 2016.....	54

## **Lista de abreviaturas**

ADL – Lenhina em detergente ácido

ADF – Fibra em detergente ácido

BAL – Bactérias de ácido láctico

CCS – Contagem de células somáticas

EM – Energia metabolizável

ESD – Extrato seco desengordurado

FEDNA – Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal

FAO – Food and Agriculture Organization

IMS – Ingestão de Matéria Seca

INE – Instituto Nacional de Estatística

MO – Matéria orgânica

MJ – Megajoule

MV – Matéria verde

MS – Matéria seca

MSD – Matéria seca digestível

NDF – Fibra em detergente neutro

N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>% /N total – Azoto amoniacal em % de azoto total

PB – Proteína bruta

RDP - Proteína degradável no rúmen

ton – Toneladas

UFC – Unidades formadoras de colónias

VFR –Valor relativo das forragens

## **Espécies botânicas referidas**

### **Fabaceae**

Ervilhaca vulgar (*Vicia sativa* L.)

Ervilhaca de cachos roxos (*Vicia villosa*)

Fava (*Vicia faba* L.)

Luzerna (*Medicago sativa* L.)

Tremoço (*Lupinus albus* L.)

Tremocilha (*Lupinus luteus* L.)

Trevo violeta (*Trifolium pratense* L.)

### **Poaceae**

Aveia (*Avena sativa* L.),

Azevém italiano (*Lolium multiflorum* Lam.)

Azevém perene (*Lolium perenne* L.)

Cevada (*Hordeum vulgare* L.)

Festuca alta (*Festuca arundinaceae* Schreb.)

Festuca pratense (*Festuca pratensis* L.)

Milho (*Zea mays* L.)

Panasco (*Dactylis glomerata* L.)

Sorgo (*Sorghum bicolor* L.)

Timóteo (*Phleum pratense* L.),

Trigo (*Triticum aestivum* L.)

Triticale (x *Triticosecale wittmak*)

## 1. Introdução

A alimentação é um ponto fulcral em qualquer tipo de exploração animal, podendo representar 40 a 60% dos custos das explorações de ruminantes. É um fator determinante da qualidade do produto final e da eficiência produtiva e reprodutiva dos animais, razão pela qual é necessário avaliar a qualidade dos seus constituintes antes da inclusão na dieta animal.

Nas explorações pecuárias onde o leite é o principal produto e fonte de rendimento, é necessário avaliar e controlar todos os fatores envolvidos na sua produção. A alimentação dos animais em explorações de bovinos leiteiros em Portugal baseia-se na utilização de pastagens e de silagens de milho (*Zea mays* L.) e de erva (geralmente azevém Italiano (*Lolium multiflorum* Lam)). As silagens são o principal constituinte da alimentação animal, particularmente em sistemas intensivos, variando a percentagem de inclusão destas com a qualidade das mesmas.

Em Portugal continental, em 2013, foram produzidas 5.150.000 ton de forragens e/ou silagens de milho, correspondendo a 71% da produção nacional de forragens (FAO, 2012).

A silagem é uma forma de conservação das forragens, que visa otimizar a produção animal e satisfazer as necessidades dos animais nas épocas do ano em que a produção de forragens e a disponibilidade de pastagens é restrita (Moreira, 2002).

O processo de ensilagem conserva a matéria seca, os nutrientes e a energia das forragens e apesar de nem sempre melhorar o valor nutritivo conserva-o. As principais vantagens deste processo são a conservação a baixo custo, a mecanização, a elevada aceitabilidade por parte dos animais, a possibilidade de aumento do encabeçamento e o fato de requerer reduzido espaço de armazenamento por unidade de matéria seca (MS) (Santos *et al.*, 2008).

A má conservação de uma silagem influencia a sua ingestão e digestibilidade, afetando consequentemente o valor alimentar e a resposta do animal. A opção por este processo de conservação depende das condições ambientais, económico-sociais e da dimensão das explorações.

Verificou-se uma demarcada evolução da produção leiteira mundial entre 2004 e 2011 mas também a diminuição do efetivo leiteiro, principalmente entre 2010 e 2011 (FAO, 2012). Este fato demonstra a melhoria da eficiência produtiva, mas tal não seria possível sem o recurso a alimentação de elevada qualidade.

A avaliação da alimentação permite a determinação da sua capacidade de suprir as necessidades dos animais, quer a nível produtivo quer a nível reprodutivo (Dijkstra *et al.*, 2005), visando melhorar a eficiência alimentar, o retorno financeiro das explorações e a

diminuição do refugo animal. Esta avaliação baseia-se maioritariamente na apreciação da composição química e do valor nutritivo das forragens, bem como da digestibilidade, das características fermentativas e da qualidade sensorial das silagens ou forragens.

O objetivo deste trabalho foi estudar a qualidade e o valor nutritivo das silagens de milho (*Zea mays* L.) e azevém Italiano (*Lolium multiflorum* Lam.), a sua conservação no decorrer da utilização e a respetiva influência na produção leiteira.

## 2. A Silagem na alimentação animal

### 2.1 Considerações gerais

As forragens são as fontes de nutrientes mais baratas para os ruminantes (Rezaei *et al.*, 2015). O seu cultivo e utilização dependem de fatores como a disponibilidade de terra, o tipo de solo, as condições climáticas e os fatores económicos.

Em 2013 foram produzidas em Portugal 5.128.992 ton de culturas forrageiras, 4.792.404 ton no Continente e 333.300 ton nos Açores (INE, 2016).

As culturas forrageiras, embora possam ser utilizadas em verde, são sobretudo conservadas através da fenação e da ensilagem, o que permite o uso destas culturas ao longo do ano ou em períodos de restrita disponibilidade de pastagem.

As culturas mais frequentemente ensiladas são as gramíneas, como o azevém Italiano (*Lolium multiflorum* Lam.), o azevém perene (*Lolium perenne* L.), o panasco (*Dactylis glomerata* L.) (Santos *et al.*, 2008) o timóteo (*Phleum pratense* L.), a festuca alta (*Festuca arundinaceae* Schreb.), a festuca pratense (*Festuca pratensis* L.) (Guo *et al.*, 2013), os cereais como o sorgo (*Sorghum bicolor* L.) (Tabacco *et al.*, 2009), a aveia (*Avena sativa* L.), a cevada (*Hordeum vulgare* L.), o triticale (X *Triticosecale wittmak*) e principalmente o milho (*Zea mays* L.) (Abreu *et al.*, 2000), e também leguminosas, como a luzerna (*Medicago sativa* L.), a fava, (*Vicia faba* L.), a ervilhaca vulgar (*Vicia sativa* L.), a ervilhaca de cachos roxos (*Vicia villosa* L.), o tremoço (*Lupinus albus* L.), a tremocilha (*Lupinus luteus* L.) (Abreu *et al.*, 2000) e o trevo violeta (*Trifolium pratense* L.) (McEniry *et al.*, 2013), entre outras.

A silagem de milho é das mais utilizadas na alimentação animal, em várias partes do mundo. Em Portugal, na costa Norte e Centro, as explorações leiteiras baseiam a alimentação dos animais em silagem de milho, alternando com silagem de forragens de inverno usualmente de azevém.

### 2.2 Ensilagem

A ensilagem é uma forma de conservação das culturas forrageiras por via húmida, através da fermentação controlada em condições de anaerobiose e acidez.

O sucesso e eficácia do processo de ensilagem e a qualidade nutritiva da biomassa conservada estão dependentes de vários fatores. Estes incluem a composição química da forragem e a taxa e extensão das perdas de MS resultantes da respiração, armazenamento e utilização da silagem (Wilkinson e Davies, 2012). Esta prática inicia-se com o corte e recorte da forragem, pré-secagem, transporte, enchimento e compactação do silo, fecho hermético, fermentação láctica, conservação e utilização (Wilkinson e Davies, 2012).

O processo de ensilagem tem como objetivo a conservação da MS, de nutrientes e da energia das forragens para posterior utilização pelo animal (Santos *et al.*, 2008), bem como reduzir as perdas de MS e nutrientes. De forma a garantir a qualidade, é essencial que se obtenham as condições de anaerobiose desejadas, para limitar o crescimento de microrganismos como as bactérias clostrídicas (*Clostridium* spp.) e as enterobactérias e promover uma adequada fermentação láctica (Liu *et al.*, 2013) e a estabilidade da biomassa ensilada.

Todavia, a ensilabilidade, isto é, a diferente aptidão das forragens para conseguirem uma boa conservação no silo sem necessidade de recurso a aditivos ou técnicas especiais (Moreira, 2002), depende das características intrínsecas das forragens, nomeadamente, dos teores de MS, de açúcares solúveis e do poder tampão. São favoráveis elevadas concentrações de MS e de açúcares solúveis e baixo poder tampão. O teor de açúcares solúveis indicado para não afetar a eficácia das bactérias lácticas (BAL) deve ser de 25 g/kg de açúcares por material a ensilar, ou superior. Também o teor de MS quando as forragens são cortadas deve ser no mínimo de 200 a 250 g/kg (20 a 25%) (Frame, 1992). As gramíneas são mais facilmente ensiladas, mas mesmo nestas verifica-se uma considerável variabilidade entre espécies. As leguminosas são menos ensiláveis devido ao elevado poder tampão que possuem e ao fato de apresentarem baixos teores de MS e de açúcares solúveis.

A conservação de nutrientes começa com o corte da forragem e termina quando o alimento é consumido pelo animal. Durante este período, a biomassa forrageira ensilada é sujeita a quatro fases (Bolsen *et al.*, 1995, cit in Wilkinson e Davies, 2012): i) a fase inicial, aeróbia no silo, imediatamente após o corte, ii) a fase fermentativa, iii) a fase estável de conservação dentro do silo (que alguns autores consideram como fases distintas) e iv) a fase de utilização, quando o silo é aberto e a biomassa ensilada é exposta ao ar, imediatamente antes, durante e após a sua recolha do silo.

### **2.2.1 Fase aeróbia**

Decorre desde o corte das forragens até à extinção de oxigénio na biomassa a ensilar, o que acontece ao primeiro e segundo dias após o fecho do silo. Nesta fase, ocorre o consumo de açúcares e oxigénio dando origem a CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e calor. A extinção de oxigénio residual promove o desenvolvimento de condições anaeróbias, pré-requisito para a correta conservação da forragem, através da atuação das bactérias lácticas (Merry *et al.*, 2002). Com estas condições, os fungos e as bactérias aeróbias, predominantes nas forragens frescas, são substituídos por bactérias anaeróbias, como as bactérias de ácido láctico, bactérias clostrídicas e as enterobactérias. O valor de pH nesta fase varia entre 6,5 a 6,0.

A fase aeróbia é consideravelmente reduzida se a forragem a ensilar for finamente cortada e bem compactada antes do rápido fecho hermético do silo. Com efeito, o tamanho das partículas da forragem após o corte e/ou recorte tem efeitos sobre a compactação da erva nos silos evitando a infiltração de ar. Com partículas de pequeno tamanho é mais fácil compactar o material ensilado e evitar a infiltração de ar (Kmicikewycz *et al.*, 2015). O prolongamento desta fase, devido a um atraso no fecho hermético e total estanquicidade do silo, permitirá a continuação da respiração e eventual esgotamento dos açúcares solúveis na massa ensilada até ao ponto em que o desenvolvimento da população microbiana é limitado pela ausência de um substrato adequado reduzindo-se, assim, a produção de ácido láctico e limitando a diminuição do pH dentro do silo.

Para além disso, o calor produzido por uma respiração excessiva será retido na biomassa ensilada causando um aumento na temperatura, que se atingir valores superiores a 40°C, pode levar a reações de “maillard”, reduzindo assim a digestibilidade das proteínas (Moreira, 2002).

### **2.2.2 Fase fermentativa**

A fase fermentativa desenvolve-se desde o início das condições de anaerobiose até a forragem atingir o pH adequado ao teor de humidade, geralmente 4,5-5,0, respetivamente para forragens com 20% e 30-50% de MS (Merry *et al.*, 2000).

Durante esta fase, as BAL epifíticas, isto é, presentes na superfície das plantas, ou adicionadas à forragem como inoculantes na altura do corte (Aksu *et al.*, 2004; Arriola *et al.*, 2011; Gou *et al.*, 2013) fermentam açúcares solúveis, inicialmente dando origem a ácido láctico, o qual causa uma diminuição do pH da massa ensilada (Filya e Sucu, 2010; Der Bedrosian *et al.*, 2012).

As BAL podem ser homofermentativas ou heterofermentativas, atuando de forma diferente. As BAL homofermentativas provocam um decréscimo mais rápido do pH, valores mais baixos de pH final e uma elevada razão lactato:acetato (Filya e Sucu, 2010). São geralmente *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* e *Pediococcus* spp. As BAL heterofermentativas, de que a mais comum é a *Lactobacillus buchneri*, produzem elevadas concentrações de ácido acético que inibem os fungos, melhorando assim a estabilidade aeróbia das silagens (Holzer *et al.*, 2003; Filya e Sucu, 2010; Queiroz *et al.*, 2013). Produzem também outros produtos finais como etanol e CO<sub>2</sub> e sua ação resulta geralmente num baixo declínio do pH.

A produção de ácido láctico e, em menor extensão, de ácido acético aumenta a acidez da biomassa e suprime o risco de outros tipos de fermentação indesejáveis (Kalaç, 2011), que conduzirão à deterioração da silagem, nomeadamente levadas a cabo pelas enterobactérias

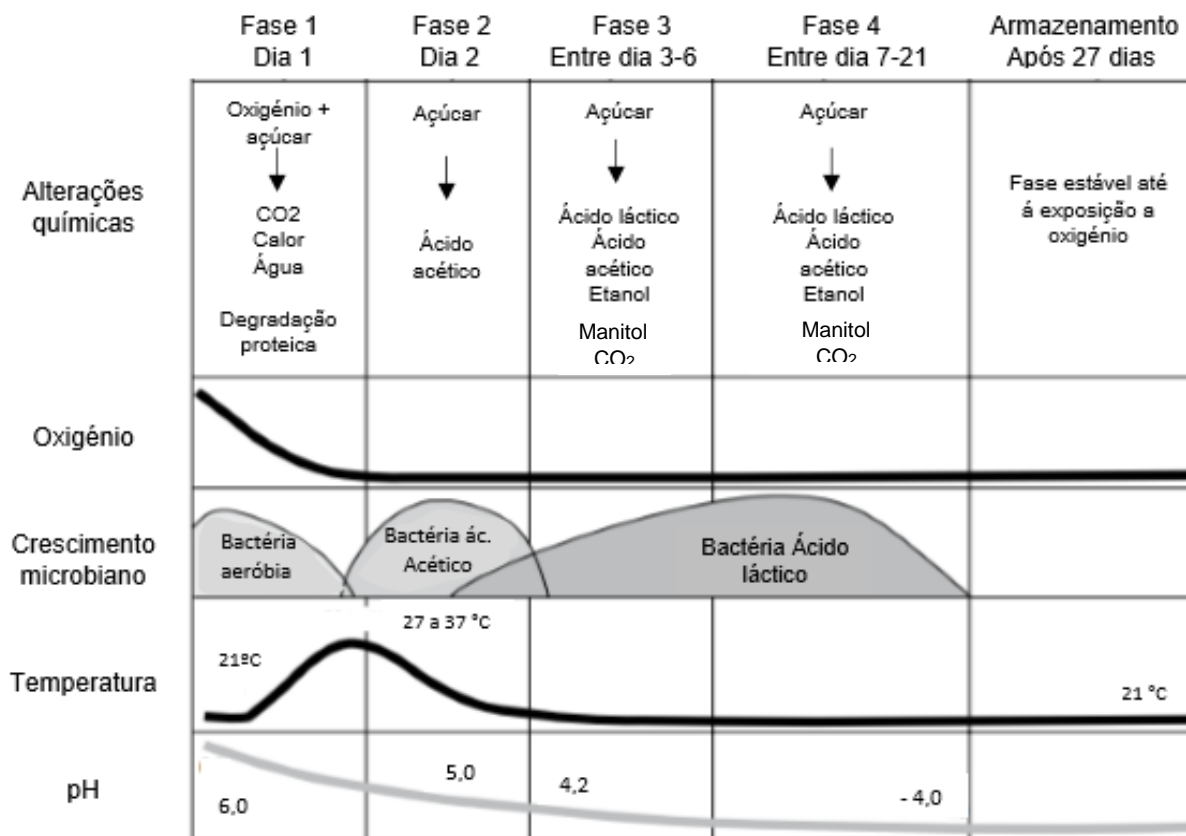
ou bactérias coliformes, anaeróbias facultativas. As enterobactérias competem pelos açúcares solúveis, fermentando-os em ácido acético, etanol e hidrogénio. Como o pH ótimo de crescimento é cerca de 7,0, apenas se mantêm ativos nos primeiros estados de fermentação. A degradação das proteínas pelas bactérias clostrídicas promove a redução da digestibilidade das silagens e a libertação de N, resultando em silagens com aspeto putrífico e mau cheiro (Jarrige, 1988).

A redução do pH, por sua vez, limita ou anula a atividade proteolítica das enzimas, encerra a atividade das enterobactérias e evita o desenvolvimento de bactérias indesejáveis. Estas bactérias, como as butíricas, podem causar elevados prejuízos com a formação de produtos tóxicos, gerar ácido butírico ou degradar aminoácidos, dependendo da sua natureza, provocando um aumento do pH. A sua presença implica sempre a diminuição de ácido láctico ao longo do período de conservação (Wilkinson e Davies, 2012).

Os clostrídeos e também a listéria (*Listeria monocytogenes*) são sensíveis à disponibilidade de água, estando presentes principalmente em forragens com baixo teor de MS. Desta forma, o pH das silagens tem de ser o mais baixo possível para inibir o seu desenvolvimento, principalmente se o teor de MS for <15% e o tempo estiver húmido, mesmo relativamente aos clostrídeos que têm pH ótimo de crescimento de 7,0-7,4. A listéria só morre em condições estritamente anaeróbias com baixo pH (McDonald *et al.*, 2011), isto é, inferior a 3,8. Assim, tal acontece na fase de armazenamento, quando o pH é muito baixo e o O<sub>2</sub> disponível está em concentrações mínimas (Figura 1).

O processo de ensilagem com as variações de disponibilidade de oxigénio, de temperatura, alterações químicas, pH e crescimento microbiano está ilustrado na figura 1. A análise mostra que a fermentação propriamente dita ocorre apenas a partir da fase 3, quando se verifica o aumento de bactérias lácticas, já não há presença de oxigénio e o pH continua a descer mas apresenta já valores favoráveis.

A eficiência com que se consegue atingir e manter a anaerobiose pode ser influenciada pela consolidação e fecho hermético final do silo, mas o grau de compactação e o teor de MS da erva influenciarão a extensão da infiltração de oxigénio. Forragens com elevado teor de MS resultante da pré-secagem (Dawson *et al.*, 1999) ou por terem sido cortadas num estágio de maturação mais avançado (McEniry *et al.*, 2013) também favorecem a atividade das BAL, em detrimento das bactérias indesejáveis (Frame, 1999; McEniry *et al.*, 2013).



**Figura 1** - Fases da fermentação normal da silagem (Penn State, 2004)

A pré-secagem das forragens antes da ensilagem melhora a qualidade da fermentação e reduz a produção de efluentes (Dawson *et al.*, 1999), aumentando o teor de MS e a sua digestibilidade. Assim, a concentração de ácido láctico necessária para garantir a conservação é menor quanto maior o teor de matéria seca.

### 2.2.3 Fase estável

Após a fermentação láctica, verifica-se uma fase estável em que poucas alterações ocorrem desde que as condições de anaerobiose sejam mantidas (McEniry *et al.*, 2007).

A estabilidade da silagem exposta ao contacto com o ar é uma fator decisivo da qualidade nutricional e valor alimentar (Filya, 2004). Esta fase é garantida pela boa estanquicidade e isolamento do silo. Caso o silo não se mantenha estanque, há entrada de ar e, conseqüentemente, deterioração aeróbia, principal responsável pela perda de valor nutritivo da silagem, para além de potenciar o risco de desenvolvimento de microrganismos indesejáveis tal como será referido a propósito da fase de utilização.

### **2.2.4 Fase de utilização, ou de abertura do silo**

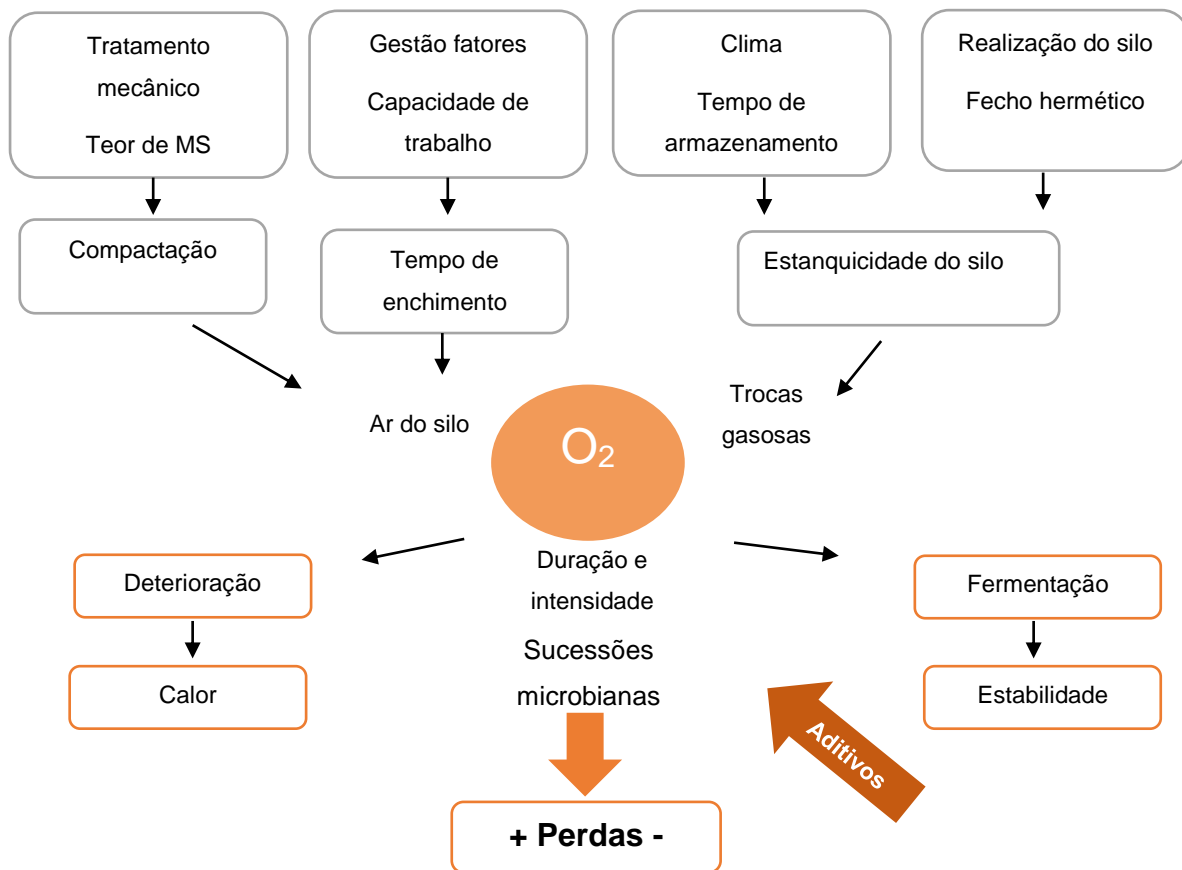
Esta fase começa quando se abre o silo para utilização. O contacto com o ar proporciona o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis como, fungos e bactérias aeróbias que se encontravam latentes em condições de anaerobiose (Pahlow *et al.*, 2003, cit in Tabacco *et al.*, 2011). Com o desenvolvimento destes microrganismos, as silagens perdem valor nutritivo devido ao consumo dos açúcares residuais que não sofreram fermentação e ácidos orgânicos formados, isto é, ácido láctico e acético, provocando aumentos de temperatura e de pH (Borreani e Tabacco, 2010). O aumento de pH proporciona condições para a atividade de microrganismos como bacilos (*Bacillus* spp.), aeróbios facultativos, fungos e enterobactérias (Santos *et al.*, 2008).

Quando se abre o silo para utilização, as perdas por degradação incidem principalmente na primeira faixa de silagem. Portanto, antes da recolha da silagem para utilização deve-se retirar uma camada de 10 a 20 cm de largura. Também entre as diferentes utilizações do silo é aconselhável o fecho adequado para evitar as sucessivas infiltrações de ar. No entanto, se a silagem for exposta ao ar por longos períodos de tempo, nomeadamente mais de 20 dias, pode ocorrer degradação aeróbia mesmo antes da retirada do silo, uma vez que o O<sub>2</sub> consegue penetrar o material ensilado, sem ser esgotado pelos microrganismos aeróbios até 4 metros a partir da superfície de utilização (Tabacco *et al.*, 2009).

### **2.3 Perdas durante o processo de ensilagem**

Durante todo o processo de ensilagem há perdas de MS e de nutrientes por diversas formas, sendo que podem ser minimizadas através de boas práticas de produção. Podem verificar-se perdas por respiração, fermentação, oxidação e por efluentes, mas também físicas, através da utilização da silagem.

A estabilidade aeróbia da silagem pode ser mantida ou afetada por diversos fatores como os biomecânicos e microbiológicos, físicos, tipos de aditivos utilizados e fecho hermético do silo. A influência destes fatores nas perdas na silagem está representada na Figura 2.



**Figura 2** - Fatores que afetam as perdas na silagem por instabilidade aeróbia (Pahlow e Muck, 2009, cit in Wilkinson e Davies, 2012)

Se não for garantida a estabilidade aeróbia das silagens, a fermentação das mesmas em boas condições é prejudicada, originando deterioração da biomassa e produção de calor, verificando-se maiores perdas.

### 2.3.1 Perdas por respiração

As perdas por respiração são as primeiras que ocorrem durante o processo de ensilagem. Têm início no terreno, logo após o corte das forragens e terminam no primeiro estágio da ensilagem, quando todo o oxigênio é consumido. As plantas após o corte continuam a respirar, as enzimas degradam os açúcares originando água e dióxido de carbono e há degradação das proteínas vegetais. Estas são perdas inevitáveis mas, caso a respiração não termine na primeira fase do processo, há maiores perdas metabólicas e sobreaquecimento das silagens, o que provoca caramelização e conseqüentemente perda de valor nutritivo. Devido à degradação de açúcares pode não haver substrato suficiente para garantir a fermentação láctica em condições desejáveis, provocando perdas adicionais por fermentação e instabilidade das silagens (Frame, 1992).

O teor de MS da forragem (Frame, 1992), a dimensão do corte (McEniry *et al.*, 2007), a velocidade de enchimento (Wilkinson e Davies, 2012), a compactação (Frame, 1992; McEniry *et al.*, 2007) e a utilização de aditivos (Driehuis *et al.*, 2001; Hu *et al.*, 2009; Filya e Sucu, 2010; Queiroz *et al.*, 2012; Seppälä *et al.*, 2015) são os fatores que mais influenciam a magnitude destas perdas.

O tempo de secagem das plantas no campo deve ser inferior a 24 horas para reduzir as perdas de MS, que podem ser notáveis nesta fase. Estas perdas variam entre 5 e 15%, sendo que por cada dia são de 1 a 2% mas aumentam para 6% após 5 dias no terreno e 10% após 8 dias (McDonalds *et al.*, 2011). O teor de MS das forragens quando são ensiladas permite controlar as perdas, uma vez que estas são minimizadas sempre que a MS seja de 250 a 300 g/kg de matéria verde (MV) (Frame, 1992).

O enchimento dos silos deve ser feito o mais rápido possível e em camadas consideráveis, atingindo rapidamente a fase fermentativa, para evitar as perdas por respiração e também por oxidação.

### **2.3.2 Perdas por fermentação**

As perdas por fermentação dependem do sucesso da fermentação e de todos os fatores a ela associados, nomeadamente o teor de MS da forragem, de açúcares solúveis e a atividade das bactérias. O elevado teor de MS da forragem e uma adequada fermentação possibilitam que as perdas sejam apenas de 4%, mas caso haja presença de bactérias clostrídicas no material ensilado, estas perdas podem ser mais relevantes, devido à produção de CO<sub>2</sub>, hidrogénio (H<sub>2</sub>) e amoníaco (NH<sub>3</sub>). Nesta fase, as perdas de MS e de energia devidas à atividade de BAL são consideradas baixas.

Segundo vários estudos, as perdas de MS por fermentação, na silagem de milho, podem atingir valores de 30 g/kg a 100 g/kg (Johnson *et al.*, 2003) ou de 45 a 55 g/kg (Kleinschmit e Kung, 2006).

### **2.3.3 Perdas por oxidação**

Quando a silagem entra em contacto com o ar, seja devido ao incorreto ou tardio fecho do silo, à sua abertura ou à penetração de ar pelas superfícies, ocorre oxidação. Deve-se à ação das enzimas vegetais e microbianas, no substrato, nomeadamente os açúcares solúveis, quando há presença de O<sub>2</sub>, produzindo CO<sub>2</sub> e água.

Este tipo de perdas é mais notável em silos de grandes dimensões por causa da elevada superfície de exposição ao ar, tornando-os mais vulneráveis à sua penetração. Nas

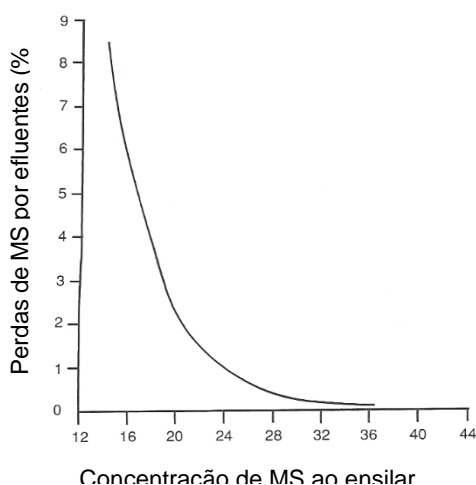
zonas dos silos onde há exposição contínua ao ar forma-se material deficientemente ensilado, que não se encontra em condições de utilização. No entanto, as perdas visíveis são apenas uma pequena fração das verificadas. Durante o processo podem ocorrer perdas até 75% da MS armazenada (McDonalds *et al.*, 2011), em particular na ensilagem em rolos.

Também na abertura do silo pode ocorrer oxidação porque os microrganismos que poderiam estar latentes desenvolvem-se devido ao contacto com o ar e causam deterioração e desperdícios. Um corte de 20 cm de espessura antes da utilização das silagens permite que os animais não sejam alimentados com silagem de menor qualidade e deficiente conservação, mas este procedimento também origina alguns desperdícios no silo.

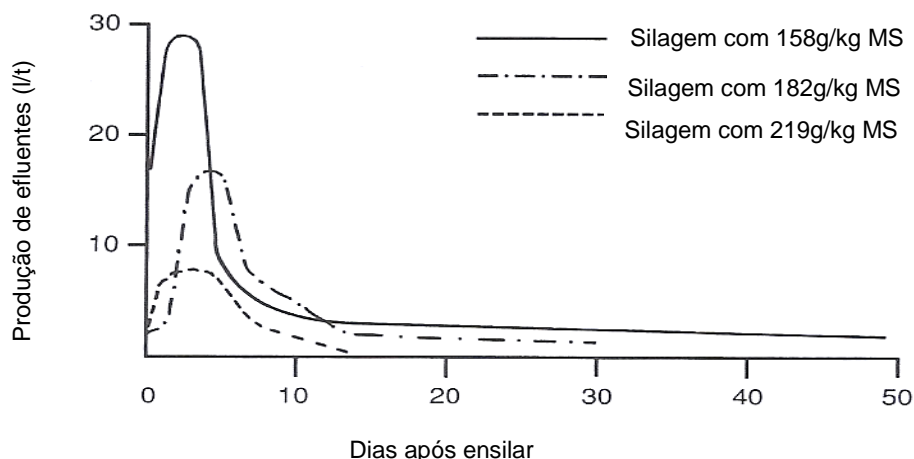
### 2.3.4 Perdas por efluentes

As perdas de nutrientes advêm da drenagem dos efluentes das silagens que, por sua vez, dependem do teor de MS do material a ensilar. Há outros fatores associados à perda de efluentes, como o grau de consolidação do silo, a natureza das forragens, o pré-tratamento realizado e os aditivos utilizados. As perdas aumentam também se os silos não forem bem selados e estanques. Os efluentes contêm valiosos nutrientes como açúcares, compostos azotados solúveis, ácidos de fermentação e minerais.

As perdas por efluentes são cerca de 10% quando a MS é cerca de 150 g/kg e mínimas quando a MS é cerca de 300 g/kg (Figura 3). Estes efluentes são um risco para o ambiente, principalmente para as águas e lençóis freáticos. O pico da sua produção ocorre na primeira semana de fecho dos silos e varia com o teor de MS do material a ensilar. Após a primeira semana a produção de efluentes tende a diminuir e estabilizar, como se pode observar na Figura 4.



**Figura 3** - Variação das perdas por efluentes com base na MS (Bastiman e Altman, 1977, cit in Frame, 1992)



**Figura 4** - Variação das perdas por efluentes no silo (Bastiman, 1977, cit in Frame, 1992)

A pré-secagem das forragens antes da ensilagem melhora a qualidade da fermentação e reduz a produção de efluentes (Dawson *et al.*, 1999).

### 2.3.5 Considerações práticas

A estabilidade da silagem exposta ao ar é um fator decisivo da sua qualidade nutricional e valor alimentar (Filya, 2004).

A estabilidade aeróbia das silagens é o resultado da interação entre fatores como a colheita da forragem, o ambiente, o manejo da forragem com o corte, recorte e o enchimento, armazenamento e utilização. As perdas devem ser minimizadas em todas as fases de ensilagem, o que implica ponderação e atenção em todos os procedimentos a realizar (Wilkinson e Davies, 2012).

Algumas características das culturas podem aumentar o risco de uma população significativamente elevada de fungos presentes nas forragens durante o corte, tais como: i) material vegetal senescente; ii) forragens que foram expostas à chuva e/ou ao vento sendo danificadas nos últimos dias de crescimento; iii) culturas em estado de maturação avançado; iv) culturas que iniciaram a senescência antes do corte; v) forragens secas num período superior a 2 dias, principalmente se as condições ambientais não forem favoráveis. Na ensilagem de forragens com estas características é prudente a utilização de aditivos para reduzir os riscos de perdas por deterioração aeróbia, melhorar o manejo da silagem através da boa compactação durante o enchimento e boa cobertura e fecho hermético do silo bem como boas práticas de utilização (Wilkinson e Davies, 2012).

## 2.4. Utilização de aditivos

As concentrações de BAL na erva são, geralmente, suficientes para garantir uma fermentação adequada, exceto em forragens jovens, o que dificulta a sua ensilagem. Porém, durante o processo de ensilagem podem ser incorporados aditivos de forma a melhorar as características fermentativas das forragens, a qualidade e conservação da silagem. São utilizados para reduzir as perdas de MS e preservar os nutrientes durante e após a fermentação. Visam prevenir ou reduzir o crescimento indesejável de microrganismos nas silagens promovendo, assim, a fermentação e a estabilidade aeróbia das silagens (Pedroso *et al.*, 2010).

O uso de aditivos é aconselhável e benéfico quando a forragem a ensilar tem baixos níveis de açúcares ou o clima for húmido e não permitir a pré-secagem das forragens. No entanto, se não forem seguidas as boas práticas de ensilagem não se justifica a sua utilização porque estes apenas são eficientes quando as silagens são produzidas corretamente. Existem variados aditivos no mercado, com diferentes formas de aplicação e características. Podem agrupar-se em diferentes categorias como se apresenta no Quadro 1.

**Quadro 1** - Classificação dos aditivos utilizados nas silagens. Modificado de Woolford, 1984, cit in Holzer *et al.* (2003) e McDonalds *et al.* (1991), cit in Santos *et al.* (2008)

Classe de aditivos	Forma de incorporação	Modo de atuação	Exemplos
Estimulantes da fermentação	Substratos	Estimulam a fermentação através do fornecimento de substrato.	Melaços e sacarose
	Enzimas	Promovem a libertação de reservas do material fermentescível dos hidratos de carbono não fermentados.	Enzimas amilolíticas, celulolíticas, xilanases
	Culturas bacterianas	Ativam o desenvolvimento e estabelecem a dominância das bactérias eficientes (BAL homo e heterofermentativas).	BAL homofermentativas e heterofermentativas Bactérias propiônicas
Inibidores da fermentação	Esterilizantes diretos e indiretos	Inibem a microflora de forma sequencial ou imediata libertando o agente ativo. Reduzem o pH e melhoram qualitativamente a microflora. Inibem o crescimento de <i>Clostridium</i> e promove as bactérias lácticas	Formaldeído, hexaminas, ácido láctico, ácido fórmico, ácidos minerais, ácido hidroclorídrico, nitritos e sulfitos
Inibidores da deterioração aeróbia	Ácidos	Aumentam a estabilidade aeróbia através das propriedades antifúngicas dos ácidos.	Ácido propiônico, ácido benzóico, ácido sórbico
Antimicrobianos	Antibióticos sintéticos e outros Agentes antimicrobianos	Reduzem diretamente o crescimento de microrganismos de deterioração podendo melhorar a estabilidade aeróbia.	Nitrito de sódio, ácido clorídrico
Nutrientes	Energia, azoto e minerais	Melhoram o valor nutritivo da silagem	Amoníaco, minerais, ureia, carbonato de cálcio
Absorventes	Reduzem os efluentes produzidos através do aumento de MS das silagens.		Produtos fibrosos secos: polpa de beterraba, palhas e grão secos de destilarias

Os aditivos mais frequentemente utilizados são os estimulantes ou inibidores da fermentação. A adição dos primeiros promove o aumento da MS e das concentrações de ácido láctico, mas diminui os níveis de azoto e o pH (McDonalds *et al.*, 1991, cit in Filya e Sucu, 2010).

As bactérias homofermentativas mais adequadas são *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilacti* e devem ser aplicadas em grande escala, como 1 milhão de unidades formadoras de colónias (UFC) por grama de material a ensilar (Filya e Sucu, 2010). Estas bactérias fermentam os açúcares solúveis em ácidos antifúngicos, como o ácido acético e ácido propiónico, melhorando assim a estabilidade aeróbica das silagens (Holzer *et al.*, 2003; Filya e Sucu, 2010; Queiroz *et al.*, 2013).

Segundo Driehuis *et al.* (2001), a inoculação das silagens com BAL heterofermentativas como as *L. buchneri* promove um aumento da taxa inicial de acidificação prejudicando a atividade das leveduras nas silagens e o crescimento de outros fungos na sua camada superficial, promovendo assim a redução da suscetibilidade de deterioração com exposição ao ar. Desta forma, a co-inoculação de *L. buchneri* e BAL homofermentativas é preferível pelos motivos referidos e também por conduzir a menor degradação de proteínas e menores perdas de MS.

A inoculação de *L. buchneri* proporciona o aumento das perdas de MS nas silagens, aumentando com o aumento da sua inclusão e também com a extensão do período de ensilagem, tornando-se um bom indicador da atividade da *L. buchneri* nas silagens inoculadas com esta bactéria (Filya e Sucu, 2010). As perdas de energia nas silagens estão geralmente mais associadas a perdas de MS por deterioração aeróbia do que propriamente a perdas por processos fermentativos (McDonalds *et al.*, 1991, cit in Filya e Sucu, 2010).

## **2.5. Qualidade das silagens**

A otimização do valor nutritivo das silagens e a sua ingestão são fundamentais para melhorar a produção animal. A qualidade depende das espécies forrageiras a ensilar, do estado de maturação da planta aquando do corte, da composição química da forragem antes de ensilar, da pré-secagem, do tamanho das partículas, do processo fermentativo, dos aditivos utilizados e da conservação adequada.

A avaliação da qualidade das silagens baseia-se na sua composição química e no seu valor nutritivo, mas também de forma mais subjetiva na cor, no odor e na textura que apresentam. Quando a silagem apresenta cor amarela ou verde-claro, dependendo da biomassa ensilada, cheiro avinagrado mas agradável e textura firme demonstra boa conservação, correspondendo a uma silagem de bom valor nutritivo (Santos *et al.*, 2008).

Alguns indicadores da degradabilidade e instabilidade das silagens são o aumento da temperatura e de pH durante o processo de ensilagem, perdas de MS e de nutrientes disponíveis, desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e rejeição por parte do animal.

### **2.5.1 Composição química das silagens de milho e de azevém**

O milho é considerado a principal forragem anual de estação quente (Moreira, 2002), com ótimas características para conservação através da ensilagem, principalmente se a produção for de forragem de corte único. Esta cultura demonstra elevado potencial produtivo, excelente valor energético, digestibilidade e ingestão voluntária por parte dos animais (Moreira, 1994, cit in Moreira, 2002).

A silagem de milho é uma componente muito importante na alimentação das vacas leiteiras, muitas vezes constituindo mais de 50% da matéria seca utilizada. Esta silagem contém menor teor de proteína bruta e proteína degradável no rúmen relativamente a outras forragens de elevada qualidade como as de luzerna e trevos (NRC, 2001). Contudo, em comparação com a silagem de sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* L.), a silagem de milho tem maiores concentrações de amido e baixas concentração de fibras, resultando em maiores concentrações de energia (NRC, 2001). Assim, geralmente, a produção de leite é mais elevada quando as vacas leiteiras são alimentadas com silagem de milho do que com silagem de sorgo forrageiro.

A cultura de azevém Italiano está adaptada a condições de inverno ameno, humidade, diversos tipos de solo e abundância de água, demonstrando crescimento ótimo a temperaturas de 15 a 20 °C (Moreira, 2002). Por apresentar crescimento favorável na primavera e decréscimo no verão a forragem é cortada e ensilada antes desta estação para melhor aproveitamento do seu valor nutritivo.

As silagens de azevém são consumidas no verão, após o consumo das silagens de milho. Contudo, o seu menor valor nutritivo, em relação à silagem de milho, pode limitar o nível alimentar das vacas leiteiras. Desta forma, a cultura é considerada, por muitos agricultores, como demorada e economicamente desinteressante, até porque, posteriormente, dificulta a exploração das culturas de milho ao mais alto nível e a incorporação de estrumes nos terrenos (Fonseca *et al.*, 2005).

A silagem de azevém por si só não fornece energia suficiente para assegurar elevados níveis de produção de leite, fazendo com que a alimentação dos animais necessite de suplementação energética. Todavia, apresenta elevados teores de açúcares e baixo poder tampão, o que favorece o processo de ensilagem.

O estado de maturação da planta aquando do corte também influencia a composição química da silagem. Quando o azevém é cortado num estado de maturação avançado,

geralmente, a fibra é muito digestível e apresenta moderadas a elevadas concentrações de proteína bruta e conseqüentemente de azoto (N). Grande parte dessa proteína é rapidamente degradada no rúmen (Van Vuuren *et al.*, 1990, cit in Bernard *et al.*, 2002).

A composição química das forragens tem influência sobre a qualidade destas, nomeadamente sobre o seu valor nutritivo e digestibilidade. Indicadores como os teores de proteína bruta (PB), de matéria seca (MS), de fibra em detergente neutro (NDF), fibra em detergente ácido (ADF) e também matéria seca digestível (MSD) e energia metabolizável (EM) são utilizados de forma a avaliar a qualidade das forragens, frescas ou conservadas.

O estado de maturação das plantas quando cortadas influencia a fermentação das silagens, a sua composição química e, conseqüentemente, o desempenho animal. A fermentação é afetada no seguimento da alteração da composição da microflora epifítica das forragens, isto é, pelas alterações das BAL e pela sua atividade metabólica (Müller, 2009).

O teor de MS das forragens correlaciona-se positivamente com o estado de maturação da planta quando esta é cortada, aumentando com este. O elevado teor de MS nas forragens verdes também favorece a conservação destas e a ingestão pelos animais mas prejudica a ensilabilidade (Müller, 2009) e a digestibilidade das silagens.

Quando a composição química é muito variável entre colheitas, quer nas forragens frescas quer conservadas, esta reflete-se na digestibilidade das silagens, principalmente devido ao teor de fibra dos alimentos que afeta a digestibilidade a nível de qualidade e quantidade (McDonalds *et al.*, 2011).

Geralmente, o teor de constituintes parietais é mais elevado com o avançar do estado de maturação das forragens. O estado de maturação também se relaciona com o teor de PB na medida em que valores mais elevados correspondem a uma menor taxa de amido no grão e maiores quantidades de açúcares solúveis disponíveis, relativamente à silagem de milho e silagem de azevém (Seglar, 2003).

Segundo Bernard *et al.* (2002), nas silagens de milho, com o aumento do estado de maturação entre 25,4% MS e 33,3% MS, observa-se um decréscimo das concentrações de PB e FB, contudo um aumento da ingestão de MS e da produção de leite. O mesmo acontece relativamente à ingestão de MS e à produção de leite quando a MS da forragem ao corte atinge 36%, comparativamente a 30% de MS. Todavia, estudos conduzidos por outros autores, não revelaram diferenças entre a ingestão de MS, ou na gordura do leite produzido, sugerindo que a relação entre a maturidade da silagem de milho e a ingestão de MS, a produção de leite, os componentes da produção de leite e a digestibilidade de nutrientes não é consistente.

A composição química e o pH das silagens de milho e azevém foram referenciados por diversos autores, com vários fatores de diferenciação como o teor de MS, a utilização de aditivos, entre outros como se apresenta no Quadro 2.

**Quadro 2** - Valores de referência da composição química e pH das silagens de milho e azevém

Silagem	MS %	PB (% MS)	Cinza (% MS)	NDF (% MS)	ADF (%MS)	ADL (% MS)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /N (%MS)	pH	Referência
<b>Milho</b>	31,3	7,95	3,1	36,7	23,4	2,23	-	4,1	Benchaar <i>et al.</i> (2014)
<b>Milho<sup>1</sup></b>	42,5	7,97	4,28	40,15	31,28	-	-	-	Bernard <i>et al.</i> (2002)
<b>Milho</b>	32,7	7,20	4,3	46,5	26,5	3,9	-	-	Cabrita <i>et al.</i> (2003)
<b>Milho</b>	32,6	6,00	6,0	42,7	23,2	3,4	-	-	Cabrita <i>et al.</i> (2003)
<b>Milho</b>	31,8	8,50	5,3	41,9	25,0	-	-	-	Cooke <i>et al.</i> (2008)
<b>Milho<sup>2</sup></b>	40,7	6,70	-	38,2	23,2	-	-	3,9	Dhiman <i>et al.</i> (2000)
<b>Milho</b>	38,5	7,10	-	39,4	23,7	-	-	3,8	Dhiman <i>et al.</i> (2000)
<b>Milho</b>	32,4	9,00	-	39,6	25,9	-	-	3,9	Dhiman <i>et al.</i> (2000)
<b>Milho</b>	34,9	7,90	4,5	41,5	24,2	2,6	-	6,1	Ferraretto e Shaver, (2014)
<b>Milho<sup>3</sup></b>	33,1	6,64	-	37,9	23,1	-	-	5,46	Hu <i>et al.</i> (2009)
<b>Milho<sup>3</sup></b>	40,6	5,59	-	42,9	25,9	-	-	5,54	Hu <i>et al.</i> (2009)
<b>Milho</b>	34,1	9,47	3,45	41,3	24,9	-	1,25	3,99	Queiroz <i>et al.</i> (2012)
<b>Milho<sup>4</sup></b>	34,8	9,55	3,29	41,7	24,0	-	1,58	3,91	Queiroz <i>et al.</i> (2012)
<b>Milho</b>	27,50	8,28	5,43	47,63	26,17	3,28	0,21	-	FEDNA (2004)
<b>Milho</b>	32,50	7,62	4,94	44,53	23,94	3,22	0,23	3,8	FEDNA (2004)
<b>Milho</b>	35,00	7,58	4,80	41,38	22,66	3,21	0,23	3,9	FEDNA (2004)
<b>Azevém<sup>5</sup></b>	60	9,95	10,18	55,55	31,28	-	-	-	Bernard <i>et al.</i> (2002)
<b>Azevém<sup>6</sup></b>	38,1	20,3	28,6	43,6	32,3	-	-	-	Cooke <i>et al.</i> (2008)
<b>Azevém</b>	46,7	8,10	6,8	63,8	39,3	5,0	-	5,0	Fonseca <i>et al.</i> (2005)
<b>Azevém</b>	28,10	14,70	12,80	45,90	29,10	2,90	-	-	FEDNA (2004)
<b>Azevém</b>	28,80	12,70	11,40	52,10	32,80	3,60	-	-	FEDNA (2004)
<b>Azevém</b>	26,30	11,00	10,90	58,30	37,30	4,41	-	-	FEDNA (2004)
<b>Azevém</b>	22,20	10,20	10,70	63,90	42,00	5,11	-	-	FEDNA (2004)

1 - Milho cortado em estado vegetativo muito avançado, com 3 meses e 60 cm de altura. Fertilização com N, P e K à instalação; 2 – Milho controle, sem aditivos; 3 – Inoculada com *L. plantarum* e *L. buchneri* 410788; 4 – Inoculada com *L. buchneri* e *Pediococcus pentosaceus*; 5 - Azevém cortado em estado de maturação avançado, 5 meses. Fertilização com N, P e K; 6 - Azevém cortado em avançado estado de maturação. Fertilização com N, P e K à instalação.

A silagem de milho apresenta teores de MS mais elevados que a silagem de azevém (Quadro 2). Segundo Seglar (2003), o intervalo de valores de MS para silagens de boa qualidade é de 30-35% e 30-40%, respectivamente para a silagem de erva e silagem de azevém.

Em geral, a silagem de azevém apresenta, em relação à silagem de milho, valores mais elevados dos constituintes parietais.

A composição química e o valor energético das forragens antes da ensilagem pode ser um bom indicador da qualidade da silagem obtida. Se o processo de ensilagem for adequado possibilita a conservação da qualidade das forragens, como é possível constatar pela análise do Quadro 3 que sumariza resultados obtidos por diversos autores.

**Quadro 3** - Composição química de características fermentativas das culturas e respectivas silagens de milho e de azevém italiano

	MS%	PB (% MS)	Cinza (% MS)	NDF (% MS)	ADF (% MS)	pH	EM (MJ/kg MS)	Referência
Cultura milho	20,9	8,9	5,1	49,1	32,2		10,74 <sup>1</sup>	Rezaei <i>et al.</i> (2015)
Silagem milho	22,4	8,3	5,8	48,0	31,6	3,92	9,71 <sup>2</sup>	Rezaei <i>et al.</i> (2015)
Cultura milho <sup>3</sup>	27,4	7,8	6,6	48,1	26,4		10,1	Abreu <i>et al.</i> (2000)
Silagem milho <sup>3</sup>	33,4	7,4		47,0	26,0	4,0	9,7	Abreu <i>et al.</i> (2000)
Cultura azevém	20,7	8,0		67,3	42,2		8,5	Abreu <i>et al.</i> (2000)
Silagem azevém	29,2	10,3		68,4	54,7	4,2	9,3	Abreu <i>et al.</i> (2000)

1 - Valor referência de Abreu *et al.* (2000); 2 – Valor de Rezaei *et al.* (2015), consistentes com os valores referidos por Abreu *et al.* (2000) e Jarrige (1998); 3 – Grão no estado pastoso

A utilização de aditivos nas silagens permite que as características das forragens verdes se mantenham mais facilmente nas silagens.

Filya e Sucu (2010) e Queiroz *et al.* (2013) demonstraram os efeitos da utilização de diferentes aditivos na silagem de milho comparativamente às silagens sem aditivos. Nos resultados apresentados por Filya e Sucu (2010), a composição química da silagem de milho, ao fim de 90 dias de ensilagem, permaneceu praticamente a mesma, exceto nalgumas

situações no respeitante aos teores de MS, de ADF e de ADF que aumentaram ligeiramente (Quadro 4).

**Quadro 4** - Composição química da silagem de milho com aditivos, 90 dias após ensilado (Filya e Sucu, 2010)

	MS (%)	NDF % MS	ADF % MS	ADL % MS	pH	EM (MJ/ kg MS)
<b>Milho controlo</b>	29,7	53,0	32,5	6,8	3,82	7,20
<b>LPC<sup>1</sup></b>	29,5	52,2	30,3	6,6	3,68	7,13
<b>LP/PC<sup>2</sup></b>	29,8	54,6	32,9	6,7	3,75	7,16
<b>LPE<sup>3</sup></b>	29,3	52,7	33,1	6,8	3,74	7,19
<b>LP/EF<sup>4</sup></b>	30,4	51,2	32,1	6,9	3,72	7,18
<b>LP/PA<sup>5</sup></b>	29,3	53,8	33,3	6,7	3,77	7,15
<b>LBB<sup>6</sup></b>	29,0	52,9	33,6	6,8	3,92	7,17
<b>LBP<sup>7</sup></b>	32,0	53,5	33,4	6,9	3,93	7,22

1 – LPC – *Lactilobacillus plantarum*; 2 - LP/PC – *L. plantarum* e *Pediococcus cerevisiae*; 3 – LPE - *L. plantarum* MTD1; 4 – LP/EF - *L. plantarum* e *Pediococcus faecium*; 5 – LP/PA - *L. plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*; 6 – LBB – *Lactilobacillus buchneri* (Biotal); 7 – LBP – *L. buchneri*

Queiroz *et al.* (2013), no mesmo sentido, estudaram o efeito de vários aditivos 120 dias após a ensilagem. Verificaram que a utilização de aditivos melhora principalmente os teores de NDF e ADF tal como pode verificar no Quadro 5.

**Quadro 5** - Composição química da silagem de milho inoculada com 8 aditivos diferentes, após 120 dias de fermentação (Queiroz *et al.*, 2013).

	MS (%)	PB (% MS)	Cinza (% MS)	NDF (% MS)	ADF (% MS)	pH	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> / N total (g/kg MS)
<b>Milho Controlo</b>	28,10	8,27	3,65	41,20	23,10	3,71	0,73
<b>BUC<sup>1</sup></b>	28,20	8,62	3,44	42,20	24,20	3,73	0,72
<b>BEN<sup>2</sup></b>	28,80	7,91	3,41	41,20	24,50	3,67	0,64
<b>SAV<sup>3</sup></b>	29,00	8,29	3,30	43,70	25,0	3,75	0,85
<b>PAS<sup>4</sup></b>	29,40	8,26	3,38	44,00	25,30	3,70	0,73
<b>SUB<sup>5</sup></b>	27,60	8,43	3,35	44,40	25,50	3,71	0,72
<b>ECO<sup>6</sup></b>	28,10	8,15	3,62	44,90	25,60	3,72	0,70
<b>SK<sup>7</sup></b>	28,20	8,41	3,83	44,60	25,80	3,73	0,68
<b>BIO<sup>8</sup></b>	28,40	8,14	3,85	45,70	25,30	3,74	0,73

1 – BUC – *L. buchneri* e *Pediococcus pentosaceus*; 2 - BEN – Benzonato de sódio; 3 – SAV – mistura de ácidos propiónico, láctico, benzoato e sórbico; 4 – PAS - *Acetobacter pasteurianus* – ATCC; 5 – SUB – *Glucanobacter oxydans* – ATCC; 6 – ECO – *Lactilobacillus plantarum*; 7 – SK – *L. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* e *Enterococcus faecium*; 8 – BIO – *Lactilobacillus plantarum*

A ingestão de MS e a produção de leite mantêm-se semelhantes tanto com a alimentação das vacas leiteiras à base de silagens de azevém como de milho ou sorgo forrageiro (McCormick *et al.*, 1990. cit in Bernard *et al.*, 2002) ou trigo (*Triticum aestivum* L.) (Ben-Ghedalia *et al.*, 1995).

No que diz respeito aos custos da alimentação e à utilização do azoto, quando a alimentação é à base de silagem de milho, de erva ou de leguminosas, estes são otimizados (Dhiman e Satter, 1997), não esquecendo o aumento da produção de leite e dos respetivos componentes. A melhoria da utilização do azoto deve-se à maior excreção de N pela urina e redução do azoto amoniacal no rúmen. Portanto, a adição de alimentos com elevadas concentrações de hidratos de carbono solúveis é benéfica (Van Vuuren *et al.*, 1993, cit in Bernard *et al.*, 2002).

### 2.5.2. Valor nutritivo das silagens

O valor nutritivo de uma silagem diz respeito à sua composição em nutrientes e à sua digestibilidade. Por sua vez, permite estimar o valor alimentar, quando relacionado com a ingestão voluntária pelos animais. Desta forma, podemos conhecer a quantidade total de

nutrientes que um animal pode digerir de determinada forragem num certo período de tempo (dias). Varia consoante as espécies utilizadas, o estado de desenvolvimento das plantas ao corte, o tipo de solo, as fertilizações realizadas, a presença de pragas e o clima.

O valor energético e azotado são os que mais influenciam o valor nutritivo das forragens, sendo que o valor energético depende da natureza do alimento e do animal a que se destina. A digestibilidade é também um parâmetro de estimação do valor energético e nutritivo de uma forragem, representando a proporção de alimento ingerido e não excretado pelas fezes.

Podem considerar-se forragens de elevado valor energético, isto é, de elevado teor de energia metabolizável (EM), as que apresentam valores superiores a 10,5 MJ EM kg<sup>-1</sup> MS, valores médios entre 9 e 10,5 MJ EM kg<sup>-1</sup> MS e valores baixos os inferiores a 9 MJ EM kg<sup>-1</sup> MS, embora possam variar consoante o tipo de forragem utilizada e das exigências dos animais em questão (Frame, 1992).

O estado de maturação das plantas ao corte influencia a conservação da forragem e o seu valor nutritivo (Wilkinson e Davies, 2012), uma vez que a digestibilidade diminui consideravelmente com o avançar progressivo da maturação. Este estado também diminui a digestibilidade da MS *in vitro* e os hidratos de carbono não estruturais, todavia proporciona o aumento do teor de fibras nas forragens.

As perdas verificadas durante o processo de conservação das forragens, principalmente as perdas mecânicas, pela perda de folhas, e as perdas por respiração durante o processo de pré-secagem, principalmente se chover durante essa fase, também podem afetar diretamente o valor nutritivo das silagens obtidas.

Relativamente às silagens em estudo, silagem de milho e silagem de azevém há vários valores base estabelecidos, relativamente ao seu valor energético e proteico (Quadros 6 e 7).

**Quadro 6** - Valor energético e proteico da silagem de milho (FEDNA, 2004)

Matéria seca	EM (MJ/kg MS) <sup>2</sup>	UFL /kg MS <sup>1</sup>	PDIA	PDIE	PDIN
			(g/kg MS)		
< 20	9,49	0,89	20	64	58
20-25	10,0	0,89	20	64	57
25-30	10,56	0,91	18	65	51
30-35	10,63	0,92	17	66	47
> 35	10,63	0,91	16	65	47

1 – Dados do INRA (1988); 2 - Dados do NRC, (2016).

**Quadro 7** - Valor energético e proteico da silagem de azevém (FEDNA, 2004)

VRF <sup>1</sup>	EM (MJ/kg MS) <sup>2</sup>	UFL /kg MS <sup>3</sup>	PDIA	PDIE	PDIN
			(g/kg MS)		
Excelente	10,34	0,97	48	99	127
Primeira	10,08	0,84	39	85	103
Segunda	9,75	0,76	34	78	89
Terceira	9,23	0,68	29	70	77
Quarta	8,79	0,62	27	66	71

1- VRF – Valor relativo da forragem, o qual reflete o potencial de ingestão de MS e a sua digestibilidade; 2 - Dados do NRC (2016); 3 - Dados do INRA (1988)

### 2.5.3 Produção de gás *in vitro*

Foram desenvolvidas várias técnicas *in vitro* e *in situ* de forma a melhorar o progresso de avaliação da qualidade da alimentação animal. Estas técnicas refletem as características fermentativas da MO total (Boever *et al.*, 2005) e permitem estimar a digestibilidade dos alimentos no rúmen e a sua digestão no trato gastrointestinal, incluindo a degradabilidade no rúmen.

Tilley e Terry (1963) desenvolveram uma técnica para cálculo da digestibilidade *in vitro* da matéria seca para ruminantes, simulando as condições do processo digestivo, com pH ótimo, condições de atmosfera anaeróbica e temperatura de incubação constantes.

A técnica de produção de gás *in vitro*, muito utilizada recentemente, traduz a degradabilidade dos alimentos no rúmen, através do ritmo de produção e da quantidade total de gás produzido. É um método rápido de rastreio da degradabilidade ruminal bem como da digestibilidade da MO (Boever *et al.*, 2005). Também o sistema de produção de gás *in vitro*, quando o alimento é incubado com licor de rúmen, pode ser utilizado para estimar a digestibilidade da matéria orgânica e a EM, tanto em alimentos compostos como em matérias-primas (Menke e Steingass, 1988), através da análise de composição química dos resíduos da fermentação.

A produção de gás relaciona-se com a degradabilidade dos alimentos, na medida em que elevada produção de gás durante as fermentações *in vitro* traduz uma maior degradabilidade dos alimentos (McDonalds *et al.*, 2011).

Esta técnica tem sido utilizada por diversos autores para o estudo da cinética dos processos de fermentação microbiana no trato digestivo (López *et al.*, 2007), para determinar o efeito dos aditivos alimentares na fermentação ruminal e a sua possível contribuição na produção de gás (Carro *et al.*, 2005).

Há vários fatores que podem influenciar a eficiência da técnica de produção de gás, como por exemplo a origem do inóculo e os fatores a ele associados. A origem do inóculo é o fator com maior influência na variação da produção de gás, e a sua atividade microbiana pode ter elevado efeito sobre a produção de gás. A concentração do inóculo pode afetar a produção de gás, na medida em que o aumento da proporção de licor de rúmen no preparado final a incubar provoca o aumento do volume de gás produzido e da taxa de produção de gás, mas pode diminuir o tempo de latência (Pell e Schofield, 1993, cit in Rymer *et al.*, 2005). A quantidade de substrato utilizado afeta o volume de gás produzido, podendo este ser mais elevado caso a quantidade de substrato também seja elevada. Importa salientar a importância da capacidade tampão do preparado, pois tem de ser adequada à quantidade de substrato utilizado para minimizar os efeitos da variação de quantidades.

#### **2.5.4 Conservação das silagens**

A conservação das silagens é fundamental para a manutenção da qualidade destas e depende da estabilidade aeróbia no interior do silo, como já foi referido anteriormente. O valor de pH, e os teores de azoto amoniacal no azoto total e de ácidos gordos voláteis são indicadores que permitem avaliar o estado de conservação das silagens.

O teor de ácidos gordos voláteis, isto é, de ácido acético, ácido butírico e ácido propiónico, é um bom indicador de conservação por traduzir a qualidade da fermentação ocorrida nos silos.

O pH está altamente correlacionado com o tipo de fermentações e perdas que ocorrem no silo. Assim, quanto mais baixo for o seu valor, melhor a qualidade da silagem, indicando se houve fermentação láctica adequada. Foram estabelecidas várias relações entre o pH, o teor de MS e a qualidade da silagem para melhor apreciação da mesma consoante o pH determinado.

Dulphy e Dermaquilly (1981, cit in Martinez e Saldaña, 1998 e ITCF, 1978) estabeleceram uma relação entre a estabilidade das silagens, através do pH e da concentração de matéria seca das mesmas, (Quadro 8). O pH correlaciona-se com o teor de MS na medida em que pode apresentar valores mais elevados quando os teores de MS também o são, de forma a manter a estabilidade das silagens.

**Quadro 8** - Relação entre o pH e o teor de matéria seca das silagens. Adaptado de Dulphy e Dermaquilly (1981) e ITCF (1978)

Teor de MS (%)	pH
15 – 20	<4
20- 25	4.0-4.2
25- 30	4.2-4.4
30- 35	4.4-4.6
35- 40	4.6-4.8

(ITCF- Perspectives Agricoles. Special Ensilage. cit in Martinez e Saldaña, 1998.)

Também Bjorge (1996) cit in Martinez e Saldaña (1998), relacionou o teor de MS e o pH com a qualidade das silagens (Quadro 9). Verificou que o pH pode variar consoante o teor de MS, mas valores de pH mais baixos favorecem a boa qualidade das silagens.

**Quadro 9** - Relação entre a qualidade das silagens e as características fermentativas (Bjorge, 1996, cit in Martinez e Saldaña, 1998)

Parâmetros	Qualidade das silagens		
	Boa	Intermédia	Má
pH (MS > 35%)	<4.8	<5.2	>5.2
pH (MS < 35%)	<4.2	<4.5	>4.8
Ácido láctico %	3-14	Variável	Variável
Ácido butírico %	<0.2	0.2-0.5	>0.5

A proporção de azoto amoniacal em azoto total ( $N-NH_4^{+}\%$  / N total) revela a proporção da degradação de proteína em amoníaco, no interior do silo, portanto, quanto mais elevada, maior a degradação de proteínas da silagem. Permite, também, prever o aproveitamento do azoto da biomassa ensilada, visto que a proteólise extensiva provoca menor eficácia no uso do N das silagens, pelos ruminantes (Van Vuuren *et al.*, 1995, cit in Driehuis *et al.*, 2001). A proteólise nas silagens aumenta com o aumento do pH, numa gama de valores entre 3 e 7 (Carpintero *et al.*, 1979; Heron *et al.*, 1989, cit in Driehuis *et al.*, 2001) e relaciona-se com a taxa de pH que declina durante a ensilagem (Driehuis *et al.*, 1997, Davies *et al.*, 1998, cit in Driehuis *et al.*, 2001).

Quando a proporção  $N-NH_4^{+}\%$ /N total é elevada, o azoto solúvel não pode ser todo assimilado pelas bactérias do rúmen levando a perdas de valor proteico. Esta proporção é elevada quando não há estabilidade do material ensilado devido ao desenvolvimento de

bactérias indesejáveis. Os teores adequados variam de acordo com a espécie forrageira ensilada, como está demonstrado no Quadro 10.

**Quadro 10** - Concentração de N amoniacal e solúvel na silagem segundo parâmetros de qualidade. Dulphy e Dermaquilly, (1981)

Classe	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> %/N total			Azoto solúvel em % azoto total
	Milho	Luzerna	Outras plantas	
Excelente	5	8	7	50
Boa	5-10	8-12	7-10	50-60
Medíocre	10-15	12-15	10-15	60-70
Má	15-20	16-20	15-20	65
Muito má	20	20	20	75

Quando o teor de azoto amoniacal é superior a 5-7% do azoto total, significa que há desenvolvimento de bactérias butíricas, mas a silagem mantém boa qualidade. Até valores inferiores a 10% a qualidade é boa e os valores são bastante aceitáveis pois indicam que o material azotado foi degradado normalmente sob a ação de bactérias e enzimas. Porém, se forem na ordem dos 10-12% tal revela que já houve degradação considerável das proteínas pelas bactérias butíricas levando a silagem para uma qualidade medíocre. Valores superiores a 20% revelam muito má qualidade traduzida pela elevada degradação das proteínas tendo consequentemente efeitos nocivos para os animais quando ingeridas (Frame, 1992; Jarrige, 1998). Verifica-se que os parâmetros são relativamente mais elevados no caso de outras plantas que não milho, como é o caso do azevém.

## 2.6. Produção de leite

O leite é o principal produto num sistema de produção de bovinos leiteiros. Nos últimos 10 anos, a Europa foi responsável por 39,8% da produção mundial (FAO, 2016). Em 2015, em Portugal, foram produzidas 2.049 ton de leite dos quais 1.952 ton, isto é, 95%, foi leite de vaca (INE, 2016).

Em termos zootécnicos, o leite, é o produto da secreção das glândulas mamárias das fêmeas mamíferas após o parto e a produção de colostro. É constituído principalmente por água (87%), gordura (3,7%) (rica em ácidos gordos saturados), proteínas (3,2%) (caseínas, lactoalbuminas e lactoglobulina), lactose (4,9%), minerais e vitaminas (Le Jaouen, 1993, cit in Louro, 2009).

A lactose é o único hidrato de carbono (dissacarídeo) do leite e constitui uma fonte de energia. Tem a função de atração osmótica da água, determinando assim o volume e o rendimento do leite durante a sua síntese (Lin *et al.*, 2016; Xiao *et al.*, 2005). Desta forma torna-se um constituinte estável, devido à quantidade de água, fazendo com que seja pouco influenciável pelas alterações alimentares sofridas pelos animais. Este teor apenas diminui consideravelmente quando há subalimentação das vacas leiteiras (Hurley, 2009). A lactose é sintetizada na glândula mamária, a partir da glucose presente na corrente sanguínea. Assim, este teor também afeta a síntese total de leite bem como proporciona o aumento da síntese de lactose (Lin *et al.*, 2016).

O valor nutritivo do leite é determinado com base na sua composição química, isto é, com base no teor de proteínas, de cálcio e de vitaminas, sendo as proteínas as principais responsáveis (Louro, 2009), mas também o teor de gordura, entre outros. Porém, o teor dos diferentes componentes no leite e, principalmente, o estado em que eles se encontram, determina as suas propriedades sensoriais e características físico-químicas como o pH, a densidade e o índice crioscópico. (Louro, 2009)

Como o leite é um produto de elevada importância, a sua qualidade bem como a de todos os intervenientes na sua produção, devem ser avaliadas, principalmente a alimentação dos animais. Outros fatores como a raça dos animais, o seu potencial genético, a fase de lactação, a época do ano, a idade e as doenças, são também relevantes para produção de leite de qualidade (Kalaç, 2011).

### **2.6.1 A influência das silagens na produção e composição do leite**

A alimentação das vacas leiteiras é composta maioritariamente por silagens, é o fator com maior expressão na qualidade e na quantidade de leite produzido. A sua influência verifica-se através da quantidade de forragem, relação forragem: concentrado, composição dos hidratos de carbono dos concentrados, suplementação lipídica e proteica, capacidade e frequência de ingestão (McDonalds *et al.*, 2011), sendo que a maior alteração verifica-se a nível da concentração de gordura do leite. Por outro lado, como as silagens representam elevada fração da alimentação das vacas leiteiras, a resposta animal também depende da qualidade da fermentação e da conservação dos nutrientes.

A elevada produção de leite está dependente de uma alimentação rica em proteína, e consequentemente, de energia (Butler, 2000).

A síntese de muitos dos constituintes do leite ocorre na glândula mamária, nas células epiteliais, a partir de precursores da corrente sanguínea (McDonalds *et al.*, 2011). Os precursores de síntese da proteína são os aminoácidos extraídos da corrente sanguínea e a

síntese de gordura tem como precursores a glucose, acetato, triglicerídeos e os  $\beta$ -hidroxibutirato (Alstrup *et al.*, 2014).

### 2.6.1.1 Teor de gordura

Na alimentação, as silagens fornecem maioritariamente constituintes parietais, energia e amido (no caso da silagem de milho) aos animais. Estes fatores por sua vez têm influência sobre o teor de gordura do leite (Roche e Dalley, 1996). O teor e a qualidade dos constituintes parietais têm principal influência sobre o perfil dos ácidos gordos voláteis no rúmen. Teores de fibra mais elevados proporcionam, geralmente, o aumento de ácido acético. Consequentemente, a relação acetato:propionato no rúmen aumenta o teor de gordura no leite e esta relação deve ser superior a 2 para que se mantenham os teores de gordura no leite (Roche e Dalley, 1996). Relativamente à degradabilidade do amido, se esta for muito elevada pode provocar descida rápida do pH no rúmen e consequentemente descida do teor de gordura no leite. Também a ingestão de energia é fundamental para a produção de leite e dos seus constituintes, através da ingestão alimentar. Quando há subalimentação das vacas há decréscimo da produção de leite. Contudo, verifica-se maior concentração de matéria gorda, fato que pode ser explicado pelo fator diluição (Hurley, 2009).

Contudo, as silagens como forragens conservadas, são fontes pobres em lípidos, sendo necessária suplementação lipídica dos regimes alimentares para obter um teor de gordura adequado. Desta forma, o teor de gordura no leite depende igualmente da suplementação lipídica da alimentação (Grummer, 1991).

O teor de gordura no leite e a causa nutricional da sua variabilidade têm sido alvo de várias teorias. Segundo McDonalds *et al.* (2011) foram propostas 3 teorias, a primeira diz respeito à produção de ácidos gordos voláteis no rúmen e o posterior fornecimento à glândula mamária; a segunda teoria sugere que as alterações na fermentação ruminal têm consequências sobre a produção de propionato o que provoca o aumento da produção de insulina e a partilha dos nutrientes entre a deposição de gordura corporal e o leite; por fim a terceira teoria refere-se à produção dos intermediários da biohidrogenação de ácidos gordos polinsaturados no rúmen, uma vez que se reconhece que a inclusão de óleos vegetais na alimentação provoca diminuições no teor de gordura do leite.

A biohidrogenação ruminal de ácidos gordos voláteis insaturados das dietas dos animais é a principal responsável pelas elevadas concentrações de AG saturados e AG *trans* no leite e na carne dos ruminantes (Bessa, sem data). A biohidrogenação pode ser distinguida por proporcionar o desaparecimento de AG insaturados das dietas e por ser uma forma de obtenção de AG saturados. Os AG são libertados pela rápida e extensa hidrólise dos lípidos das dietas, no rúmen. Há vários fatores que afetam a biohidrogenação ruminal, como por

exemplo a quantidade e o tipo de substrato de AG, a relação forragem:concentrado das dietas e a concentração de N também nas dietas animais (Dhiman *et al.*, 2000), através da alteração da flora microbiana no rúmen.

Este processo de biohidrogenação pode originar vários intermediários, maioritariamente com dupla ligação *trans*. Assim, quando os AG atingem o intestino delgado estão principalmente sob a forma livre e saturada ou *trans* insaturada. Por outro lado, há também hidrólise e absorção dos lípidos estruturais dos microrganismos ruminais, no intestino delgado, tornando-se disponíveis para serem transferidos para o leite e contribuírem para o perfil de AG da gordura do leite. O teor de ácidos oleicos conjugados (CLA) é particularmente mais elevado no leite e produtos lácteos, sendo benéfico para a saúde humana devido às propriedades anticancerígenas. Esta concentração, por sua vez, pode ser manipulada através da alimentação, por exemplo pela inclusão de forragem fresca.

### **2.6.1.2 Teor de proteína**

O teor de proteína no leite é diretamente influenciado pela fonte e quantidade de proteína dietética, pelos aminoácidos, suplementação lipídica, amido, ingestão de energia e qualidade da forragem (Roche e Dalley, 1996). Estes componentes podem ser fornecidos por dietas completas contendo silagens mas também alimentos compostos. A qualidade das silagens fornecidas às vacas leiteiras tem efeito sobre a ingestão de MS e de energia e, conseqüentemente, sobre a produção leiteira e proteica.

As dietas alimentares devem ser equilibradas e ricas em proteína para o fornecimento adequado de aminoácidos necessários para a síntese de proteína no leite durante a lactação (Alstrup *et al.*, 2014; Ipharraguerre e Clarck, 2005). Contudo, dietas com elevada suplementação proteica permitem que a utilização do azoto diminua, aumentando assim a sua excreção pela urina, devido ao consumo excessivo (Ipharraguerre e Clarck, 2005). Todavia, esta resposta é variável consoante a natureza da proteína alimentar, sendo necessário também haver equilíbrio entre proteínas com elevada e baixa degradabilidade, como a proteína microbiana, que apresenta elevada degradabilidade, sendo um boa fonte de aminoácidos para as vacas leiteiras.

As principais proteínas do leite são a caseína, lactoalbumina e lactoglobulina e são sintetizadas na glândula mamária a partir dos aminoácidos extraídos da corrente sanguínea (Bequette *et al.*, 1998), ao contrário dos restantes proteínas como as imunoglobulinas, soroalbuminas, lactoferrina, entre outras, que são apenas absorvidas da corrente sanguínea. Desta forma, a disponibilidade de aminoácidos pode ser considerada como um fator condicionante da produção de leite e respetiva síntese de proteína.

A proteína em excesso na alimentação é transformada em ureia no leite, contudo este processo requer energia, que pode ser considerada como energia desperdiçada. Desta forma, o teor de ureia é considerado um indicador de suplementação proteica adequada. Segundo Nelson (1996, cit in Miranda, 2014), o teor ideal de ureia no leite deve rondar os 270 a 300mg/kg de leite, quando é superior a 342 mg/kg reflete excessiva concentração proteica na alimentação animal e quando inferior a 256 mg/kg reflete a baixa quantidade de proteína nas dietas. Contudo, estes valores são variáveis consoante o nível de produção das vacas leiteiras. Desta forma, a redução da suplementação de proteína melhora a eficiência de conversão da proteína alimentar em proteína no leite (Nielson *et al.*, 2003, cit in Alstrup *et al.*, 2014). Por outro lado, no caso da suplementação proteica ser limitada prevê-se uma descida considerável da ingestão voluntária de MS nas vacas leiteiras, uma vez que estes fatores estão correlacionados positivamente (Broderick, 2003). Uma dieta deficiente em proteína pode limitar a atividade microbiana no rúmen e prejudicar a ingestão e digestão dos alimentos (Oldham, 1984, cit in Alstrup *et al.*, 2014) bem como a produção de leite (McDonalds *et al.*, 2011).

A elevada concentração proteica nas dietas aumenta a ingestão de MS, porém, as respostas variam de acordo com o nível de suplementação (Allen, 2000). Uma dieta excessivamente suplementada pode ter implicações para o animal a vários níveis, portanto é necessário cumprir os parâmetros de suplementação. O aumento da concentração de PB nas dietas proporciona também o aumento da digestibilidade da fibra e conseqüentemente da MS, parcialmente devido aos efeitos do aumento da proteína degradável no rúmen (RDP) na digestibilidade dos alimentos (Allen, 2000) Com este aumento, há substrato para a multiplicação da flora microbiana do rúmen permitindo uma melhor ação dos microrganismos na degradabilidade dos alimentos. Por outro lado, segundo Kalscheur *et al.* (1999), o aumento de proteína não degradável no rúmen nas dietas das vacas leiteiras pode proporcionar um decréscimo da proteína e gordura no leite uma vez que pode condicionar a multiplicação da flora microbiana no rúmen.

A fonte proteica é também uma característica importante na produção de leite e respetivos constituintes, através da degradabilidade, digestibilidade e composição em aminoácidos. Fontes proteicas ricas em proteína não degradável no rúmen, mas com elevada digestibilidade pós-ruminal e rica em aminoácidos como a lisina, metionina e fenilalanina (aminoácidos limitantes) podem aumentar a síntese proteica na glândula mamária.

## **2.6.2 Sistema de classificação do leite**

A qualidade do leite cru é o fator determinante do preço pago ao produtor, havendo assim um incentivo à melhoria de qualidade (ALIP, Lúcia Medeiros, 2015). A classificação do leite é feita com base em parâmetros quantitativos da composição do leite, teor de matéria gorda (MG) e matéria proteica (MP) e qualitativos higiénicos e sanitários, através da contagem de microrganismos e contagem de células somáticas (CCS). A contagem de células somáticas e de microrganismos no leite, não são influenciáveis pela alimentação das vacas. Estes teores são importantes por nos transmitirem informações sobre o sistema imunitário das vacas e as condições higiénicas durante a ordenha. A sua contagem é utilizada para avaliação e monitorização da saúde do úbere das vacas e a infeção e inflamação da glândula mamária das mesmas. Altas CCS provocam alterações na composição do leite, diminuição do valor nutritivo e diminuição da estabilidade térmica do leite. A contagem microbiana possibilita a avaliação da higiene durante a ordenha do leite nas explorações, qualidade dos sistemas de refrigeração e transporte.

Os teores padrão de qualidade do leite são de 3,7% de MG e 3,2% de MP. Relativamente à valorização qualitativa, a contagem de células somáticas não pode exceder o máximo de 400.000 células/ml e os microrganismos no máximo de 100.000 colónias/ml (Diário da república, I série, nº27, 1990).

Quando os teores de MG e de MP são ultrapassados positivamente, o preço pago por litro de leite sofre bonificações, tal como quando as contagens de microrganismos e células somáticas não excedem os valores padrão. O contrário também se aplica caso não sejam verificadas as condições de qualidade e quantitativa da composição do leite e qualitativa a nível higio-sanitário.

### **3. Material e métodos**

O estudo foi realizado em dois locais, na exploração de bovinos de leite, Casal de Quintanelas e no Laboratório Pais de Azevedo, no Instituto Superior de Agronomia.

#### **3.1 Caracterização da exploração**

O Casal de Quintanelas foi fundado em 1968 pelo Engenheiro José Manuel Arriaga e Cunha e pertence atualmente ao seu filho, Sr. Alexandre Arriaga e Cunha. A exploração situa-se em Pêro Pinheiro, Sintra, e dispõe de 260 hectares dos quais 120 são arrendados, 20 para pastoreio permanente e 100 para cultivo de forragens anuais para ensilar.

Dedica-se à produção de leite de vaca e de animais de alta genética. Têm cerca de 280 vacas adultas e não possui touro, visto que recorre sempre a inseminação artificial. O modo de produção destes animais baseia-se num regime intensivo onde as vacas são ordenhadas duas vezes por dia.

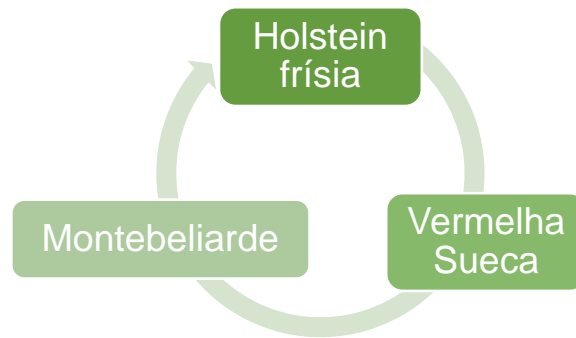
As vacas leiteiras adultas estão estabuladas e separadas por parques. Esta separação ocorre de acordo com a fase de lactação e nível de produção em que cada vaca se encontra. Desta forma existem, geralmente, 5 parques de lactação e um parque de vacas secas. Os parques 1 e 4 correspondem às vacas no início da lactação, o parque 2 ao segundo terço, o parque 3 ao terceiro terço e o parque 5 às vacas com inflamações na glândula mamária, geralmente menos produtivas. No entanto, o parque 4 difere do parque 1 por possuir vacas com algum tipo de lesão ou distúrbio.

A transferência das vacas entre grupos é marcada por alguns condicionalismos, como por exemplo a confirmação da gestação. A mudança das vacas dos parques 1 e 4 para o parque 2 ocorre quando a gestação da vaca é confirmada. De seguida, as vacas são transferidas para o parque 3 quando as vacas estão no fim da lactação.

##### **3.1.1 Genética dos animais**

A genética dos animais da exploração provém de um cruzamento entre as raças Holstein Frísia, Montebeliarde e Vermelha Sueca. Este cruzamento genético foi adotado em 2007, com o intuito de melhorar alguns distúrbios metabólicos e parâmetros produtivos e reprodutivos.

O cruzamento entre estas três raças (figura 5) melhora a resistência, a rusticidade e a longevidade dos animais bem como a saúde destes em geral, diminuindo a taxa de refugo. É efetuado de forma rotacional, para haver equilíbrio entre as proporções das três raças.



**Figura 5** - Cruzamento genético dos animais da exploração

### 3.1.2 Alimentação dos animais

Na exploração a alimentação é distribuída aos animais duas vezes por dia. As vacas adultas são alimentada através do sistema *unifeed*, personalizado de acordo com a fase do ciclo produtivo e reprodutivo em que se encontram. As vacas secas e as novilhas, para além do *unifeed* têm feno à disposição e acesso à pastagem.

O *unifeed* é uma mistura de alimentos fornecidos aos ruminantes. Neste caso, para as vacas leiteiras, é composto maioritariamente por silagem de milho (*Zea mays L.*) ou azevém Italiano (*Lolium multiflorum Lam.*), feno-silagem de azevém, feno de azevém e concentrados como bagaço de soja (*Glycine max L.*), colza (*Brassica napus L.*), milho em grão e ração para vacas leiteiras adultas. Ajustado diariamente para cada dieta consoante o teor de matéria seca das silagens a utilizar, contém diferentes percentagens de cada alimento.

No caso da silagem de milho (Figura 6 a), a plantação é comprada a fornecedores da exploração, cortada e transportada até à mesma para se proceder ao processo de ensilagem. Foram preparados, em 2015, 3 silos de milho, sendo que o processo ocorreu entre os dias 25 e 27 de Agosto no silo 1 e entre os dias 14 e 19 de Setembro nos silos 2 e 3. O silo 1 foi preenchido com forragem proveniente de uma cultura e um processo de ensilagem, os silos 2 e 3 foram preenchidos com forragem da mesma cultura e com o mesmo processo de ensilagem.

A silagem de azevém (Figura 6 b) é produzida na própria exploração, desde a sementeira à ensilagem. Relativamente a esta silagem, foram preparados 3 silos, simultaneamente, entre os dias 29 de Abril e 5 de Maio, preenchidos com a mesma cultura e processo de ensilagem.



**Figura 6-** Silagem de milho (a) e silagem de azevém (b)

A feno-silagem de azevém é uma componente do *unifeed* e varia consideravelmente com o tipo de silagem utilizado. Quando a formulação do *unifeed* tem por base a silagem de azevém, a inclusão da feno-silagem desta espécie é menor. A feno-silagem utilizada é integralmente comprada a diferentes fornecedores da exploração, podendo apresentar grande variabilidade entre rolos.

### **3.2 Colheita de amostras de silagem, feno-silagem e de leite**

#### **3.2.1. Silagem**

Durante 5 meses foram acompanhadas as silagens de três silos de milho e de três silos de azevém, sendo feita uma recolha semanal em cada quarto de silo. Para cada uma das silagens estudadas, o efeito do silo traduz a variação da composição da silagem em função das condições de corte da forragem e do processo de ensilagem.

Foram efetuadas 21 recolhas semanais de silagem, das quais 11 corresponderam a silagem de milho e 10 a silagem de azevém. Na silagem de milho foram realizadas duas colheitas no mesmo quarto de um silo, correspondendo ao dia de abertura e 5 dias após, daí apresentar mais uma recolha do que a silagem de azevém. Quando se iniciaram as recolhas nos silos de milho, já tinha sido utilizado metade do primeiro silo. No primeiro silo de azevém apenas foram recolhidas duas amostras de silagem porque este apresentava metade do tamanho dos restantes silos.

A abertura dos silos de milho foi feita respeitando a mesma ordem de ensilagem, o primeiro silo foi aberto no dia 2 de Fevereiro, o segundo silo no dia 27 de Fevereiro e o terceiro no dia 21 de Março. Os silos 1, 2 e 3 de azevém foram abertos respetivamente nos dias 1 de Junho, 4 de Junho e 6 de Julho.

A colheita das amostras foi realizada diretamente nos silos. De forma aleatória, foram recolhidas pequenas frações de silagem. Após correta homogeneização foram armazenadas em sacos de plástico e congeladas, a -20 °C, até análise.

### **3.2.2 Feno-silagem**

As recolhas de feno-silagem decorreram nos mesmos dias das recolhas da silagem. Foram recolhidas amostras de todos os rolos de feno-silagem que forneceram a alimentação dos animais no respetivo dia, armazenadas também em sacos de plástico e congeladas a -20°C até análise.

### **3.2.3 Leite**

A recolha do leite decorreu no mesmo período das recolhas de silagem e feno-silagem. Foram recolhidas amostras do leite produzido pelas vacas de cada parque e também uma amostra do tanque total. Foram, portanto, realizadas 15 recolhas aos 4 parques de animais.

Após a recolha, as amostras foram congeladas a -20°C e enviadas para o laboratório da Associação Interprofissional do Leite e Lacticínios (ALIP), para análise aos seguintes componentes: matéria gorda (MG), matéria proteica (MP), extrato seco desengordurado (ESD), células somáticas (CCS), lactose e ureia.

O laboratório utiliza o equipamento automático Milkoscan FT 6000 para analisar os componentes acima mencionados.

## **3.3 Análises laboratoriais realizadas nas amostras de silagem**

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Pais de Azevedo, no Instituto Superior de Agronomia.

Nas amostras de silagem e feno-silagem foram determinadas a matéria seca (MS), a cinza, o pH, o azoto amoniacal ( $N-NH_4^+ \%$ /N total), a proteína bruta (PB), a fibra em detergente neutro (NDF), a fibra em detergente ácido (ADF) e a lenhinha em detergente ácido (ADL). Todas as amostras foram analisadas em duplicado.

Para todas as determinações, exceto o pH e o azoto amoniacal, foi necessário secar e moer previamente as amostras. As amostras foram secas a 60°C durante 24 horas. Após a secagem foram sujeitas a moenda, num moinho, com crivo de 1mm.

### **3.3.1. Matéria seca e cinza**

A MS foi determinada a partir de 2 g de amostra em estufa a 104° C durante 24 horas. A cinza foi determinada por incineração da amostra na mufla a 550°C, durante a noite.

### **3.3.2. Proteína bruta**

O teor de PB foi calculado multiplicando o teor de N determinado pelo método Kjeldahl por 6,25.

### **3.3.3. Constituintes parietais**

A determinação dos valores de NDF, ADF e ADL foi realizada com base no método de Van Soest *et al.* (1991), com recurso ao sistema Fibertec.

### **3.3.4. pH**

O pH foi medido com um potenciômetro 744 pH Meter (Metrohm). Foi utilizada silagem em fresco, cortada em pequenas frações onde foi adicionada água destilada, numa proporção de 1:5, ou seja, 20 g de silagem para 100 ml de água.

### **3.3.5. Azoto amoniacal**

A determinação do azoto amoniacal foi realizada com a silagem em fresco, recorrendo ao método em uso no laboratório Professor Pais de Azevedo, baseado em Bremner e Kenney (1965).

### **3.3.6. Produção de gás *in vitro***

O método da digestibilidade *in vitro* utilizado foi adaptado do Método de Menke e Steingass (1988). Foi medida a produção de gás das silagens de milho e de azevém, considerando a palha e o trigo como alimentos controlo.

As incubações foram realizadas em seringas de 100 ml e todas as amostras foram determinadas com 5 repetições. Em cada seringa, foram incubadas 200 mg de amostra e 30 ml da mistura de licor de rúmen e saliva artificial. Após as seringas serem fechadas em vácuo foram colocadas em banho-maria a 39°C. Ao longo da incubação foram medidas as produções de gás às 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 e 96 horas após o início da incubação.

Com base nos valores de produção de gás registados foi possível estimar os parâmetros da produção recorrendo ao programa SAS. Sabendo o volume de gás produzido com base num modelo logístico  $Y=a(1+e^{-k*t})^{-m}$  onde t corresponde ao tempo de incubação em horas, foi possível estimar potencial máximo de produção (a), a taxa de produção de gás (k) e o parâmetro que traduz o ponto de inflexão da curva (m) de cada alimento incubado.

### 3.3.7. Estimativa do valor energético e azotado das silagens

Foi estimado o valor energético e o valor azotado das silagens de milho e azevém, recorrendo às equações propostas pelo INRA (2007) e tendo por base os valores da composição química anteriormente analisados. Todavia, algumas variáveis, não determinadas através da análise da composição química, foram consideradas como os valores base do INRA (2007), relativamente aos teores de matéria seca apresentados por cada amostra. As variáveis foram as seguintes, gordura bruta, GB=2,10% para ambas as silagens; coeficiente de utilização digestiva, CUDmo=0,71 na silagem de milho e CUDmo=0,70 na silagem de azevém; digestibilidade teórica, DT=0,64 na silagem de milho e DT=0,7 na silagem de azevém; e digestibilidade real os aminoácidos (AA) no intestino delgado, dr= 0,70 na silagem de milho e dr=60 na silagem de azevém.

Na determinação do valor energético foram estimados valores da energia bruta (EB), energia digestível (ED) e metabolizável (EM) das silagens bem como da unidade forrageira leite (UFL). O cálculo do valor energético em questão foi determinado seguindo o formulário apresentado no seguinte Quadro 11.

Quadro 11 - Fórmulas de cálculo do valor energético das silagens de milho e de azevém (INRA, 2007)

Valor energético	
Silagem de Milho	Silagem de Azevém
EB forragem verde = 4487+2,019PB EB Kcal/kg MS = EB forragem verde +25 MS>30% EB Kcal/kg MS = EB forragem verdeX1,02 MS<30%	EB Kcal/kg MS =3910+2,450*PB+169,6*pH
ED Kcal/kg MS =EB*CUDenergia CUDenergia=1,001CUDmo-2,860 CUDmo= 123,6-0,169ADF (g/Kg mo)	ED Kcal/kg MS =EB*CUDenergia CUDenergia=1,0263*CUDmo-5,723 CUDmo= 123,6-0,169ADF (g/Kgmo)
EM Kcal/kg MS =ED*(EM/ED)	EM Kcal/kg MS = ED*(EM/ED)
EN = EM/ kl Kl=0,60+0,24*(q-0,57) q= EM/EB	EN = EM/ kl Kl=0,60+0,24*(q-0,57) q= EM/EB
UFL/kg MS =EN/1700	UFL/ kg MS =EN/1700

EB – energia bruta; ED – energia digestível; EM – energia metabolizável; EN – energia net; UFL – unidade forrageira leite; CUDmo– coeficiente de utilização digestiva da matéria orgânica; CUDenergia - coeficiente de utilização digestiva da energia; Kl – eficiência da utilização de EM para produção de leite

Para a estimativa do valor azotado expresso em proteína digestível no intestino de origem alimentar (PDIA), as proteínas digestíveis no intestino, permitidas pela energia e pelo azoto do alimento (PDIE e PDIN), foi utilizado o formulário que consta no Quadro 12.

Quadro 12 - Fórmulas de cálculo do valor azotado das silagens de milho e de azevém (INRA, 2007)

Valor proteico	
Silagem de Milho	Silagem de Azevém
$PDIA\ g/100g=1,11 \times PBx(1-DT) \times dr$	$PDIA\ g/100g=1,11 \times PBx(1-DT) \times dr$
$PDIME\ g/100g=0,093 \times MOF$	$PDIME\ g/100g=0,093 \times MOF$
$MOF=MO \times CUD_{mo}-GB-PBx(1-DT)$	$MOF=MO \times CUD_{mo}-GB-PBx(1-DT)$
$PDIMN\ g/100g=0,64 \times PBx(DT-0,10)$	$PDIMN\ g/100g=0,64 \times PBx(DT-0,10)$

DT – degradabilidade teórica; dr – degradabilidade real dos AA no intestino delgado; GB – gordura bruta; MOF – matéria orgânica fermentescível; MO – matéria orgânica; PB - Proteína bruta; PDIA – proteína digestível no intestino de origem alimentar; PDIME - proteína digestível no intestino permitida pela energia do alimento; PDIMN - proteína digestível no intestino, considerando o azoto do alimento.

Relativamente à silagem de azevém foi ainda calculado o valor relativo da forragem (VRF) de acordo com FEDNA (2004), através da seguinte fórmula:  $VRF = (88,9 - (0,779 \times ADF (\%MS))) \times (120/NDF (\%MS)) / 1,29$ . Este valor permite-nos classificar as silagens de erva relativamente à capacidade de ingestão e digestibilidade, auxiliando na classificação e estudo do valor energético e proteico.

### 3.4. Análises realizadas à feno-silagem

Foram realizadas análises à composição química das feno-silagens, nomeadamente à MS, cinza, PB, NDF, ADF, ADL e pH. As análises foram realizadas com base nos procedimentos acima descritos para a determinação nas silagens.

### 3.5. Análises laboratoriais realizadas nas amostras de leite

As determinações da MG, MP, CCS, lactose e ureia do leite foram feitas com recurso ao aparelho automático Milkoscan FT6000.

### 3.6. Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos pelas determinações anteriores foi realizada com recurso ao programa Statistical Analysis System (SAS). Para cada tipo de silagem (milho e azevém) os resultados da composição química e valor nutritivo foram analisados com o procedimento MIXED do programa SAS, para testar o efeito do silo e da data de recolha. A data da recolha de amostra representa a fase de utilização dos silos, uma vez que cada recolha é uma amostra significativa de ¼ do silo. Da mesma forma, a composição química das duas silagens foi comparada por análise de variância recorrendo também ao procedimento MIXED do SAS. A produção de gás a partir da incubação de amostras de silagem de milho e de azevém foi modulada de acordo com o modelo logístico  $Y=a (1+e^{-k*t})^{-m}$ , utilizando o procedimento NLIN do programa SAS. Os parâmetros desta modulação foram comparados por análise de variância através do procedimento MIXED (SAS) para testar o efeito do silo e da data de recolha das amostras.

A variação da composição do leite também foi analisada em função das diferentes silagens utilizadas na alimentação das vacas leiteiras, silos de cada silagem e data em que foram recolhidas.

Os valores estatisticamente significativos foram aqueles que apresentaram probabilidade de significância do valor de F da análise de variância,  $P, <0,05$ .

## 4. Resultados

### 4.1 Composição química das silagens de milho e azevém

Os dados da composição química da silagem de milho foram submetidos a análise de variância para testar o efeito do silo e da data recolha no silo na composição química e pH da silagem. O resultado desta análise é apresentado no Quadro 13.

Quadro 13 - Composição química e pH da silagem de milho em função do silo e da data de recolha

	Silo 1	Silo 2	Silo 3	Recolha 1	Recolha 2	Recolha 3	Recolha 4	DPM <sup>(1)</sup>	Silo	Recolha <sup>(2)</sup>
MS (%)	37,2 <sup>a</sup>	23,4 <sup>b</sup>	31,4 <sup>c</sup>	29,8	30,5	31,4	30,8	1,77	0,0016	0,7811
PB (% MS)	6,8 <sup>a</sup>	8,2 <sup>b</sup>	6,7 <sup>a</sup>	7,5	7,6	7,0	6,8	0,27	0,0020	0,0707
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> %/N total	4,65 <sup>a</sup>	3,10 <sup>b</sup>	2,60 <sup>c</sup>	3,43	3,67	3,55	3,15	0,28	0,0006	0,1299
Cinza (%MS)	4,6	6,3	5,8	6,5	5,5	5,4	4,7	0,31	0,2123	0,2706
NDF (%MS)	43,1 <sup>a</sup>	61,0 <sup>b</sup>	50,2 <sup>c</sup>	52,3	51,1	51,1	50,7	2,31	0,0001	0,5239
ADF (%MS)	21,5 <sup>a</sup>	36,6 <sup>b</sup>	27,2 <sup>c</sup>	29,9 <sup>a</sup>	28,7 <sup>ab</sup>	27,9 <sup>bc</sup>	27,1 <sup>c</sup>	1,93	<0,0001	0,0291
ADL (%MS)	2,5 <sup>a</sup>	4,0 <sup>b</sup>	2,3 <sup>a</sup>	2,9	2,9	2,9	2,9	0,27	0,0033	0,9958
pH	4,00 <sup>a</sup>	3,75 <sup>b</sup>	3,80 <sup>b</sup>	3,80	3,90	3,88	3,83	0,04	0,0216	0,2760

(1)- Desvio padrão da média; (2)- Nível de significância dos valores de F para os efeitos silo e data de recolha; a,b,c: Para cada efeito, os valores afetados por uma mesma letra numa mesma linha não são significativamente diferentes (P>0,05)

Verifica-se um efeito significativo do silo no pH e em todas as frações da composição química da silagem de milho, com exceção do teor de cinzas.

O teor de MS e de azoto amoniacal em % do azoto total (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>% / N total ) foram mais elevados no silo 1 comparativamente ao observado nos silos 2 e 3. No caso da MS, verificam-se 13,8 pontos percentuais de diferença relativamente à silagem do silo 2 e 5,8 pontos percentuais em relação à silagem do silo 3. O azoto amoniacal expressa um diferencial de 2,05 pontos percentuais de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>% / N total entre os valores mais distantes, referente ao silo 3.

O teor de PB foi mais elevado na silagem do silo 2, com um aumento de 1,4 e 1,5 pontos percentuais relativamente à silagem dos silos 1 e 3, respetivamente.

A silagem do silo 2 revela também teores de NDF, de ADF e de ADL mais elevados. O teor de NDF foi superior em 17,9 e 10,8 pontos percentuais comparativamente às silagens dos silos 1 e 3, o ADF é superior em 12 e 9,5 pontos percentuais e o ADL é superior em 1,5 e 1,7 pontos percentuais, também relativamente às silagens dos silos 1 e 3.

O valor de pH mais elevado foi observado na silagem do silo 1 com mais 0,2 unidades comparativamente às silagens dos silos 2 e 3 que apresentaram pH idêntico.

O teor de cinzas não sofreu qualquer tipo de efeito apresentando a mesma média quando se considerou os silos individuais ou as recolhas, sendo esta de 5,6 % na MS.

Relativamente ao efeito da data de recolha da silagem no silo, a PB revelou uma tendência para valores mais baixos nas últimas datas de recolhas. Em termos numéricos, na última recolha, o teor de PB foi 0,83 pontos percentuais inferior ao teor de PB registado na segunda recolha, a qual apresenta o valor mais elevado.

Os teores de ADF variaram significativamente em função das datas de recolhas, decrescendo à medida que iam avançando as recolhas no silo, sendo que entre a primeira recolha e a última verificou-se um diferencial de 2,85 pontos percentuais.

Componentes da silagem como os teores de MS, de NDF, de ADL e de  $N-NH_4^+%$ /N total não sofreram qualquer efeito significativo em função da data de recolha. Os componentes em questão apresentaram teores médios entre as recolhas de 30,6%, 51,3%, 2,9 % e 3,45 pontos percentuais, respetivamente de MS, de NDF, ADL e  $N-NH_4^+%$  / N total.

Da mesma forma, o pH da silagem de milho não variou em função da recolha realizada, apresentando um valor médio de 3,85.

Ainda em relação aos constituintes da silagem de milho calculou-se a matriz de correlação representada no Quadro 14.

Quadro 14 - Matriz de correlação entre os componentes de composição química entre si e pH da silagem de milho

	MS %	PB (% MS)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> % / N total	CINZA (% MS)	NDF (% MS)	ADF (% MS)	ADL (% MS)	pH
MS %	1	0,84123		0,61525	0,80474			0,70983
		0,0012		0,0439	0,0028			0,0144
PB (% MS)		1	0,81357					0,87948
			0,023					0,0004
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> % / N total			1					0,81282
								0,0024
CINZA (% MS)				1	0,77160			
					0,0054			
NDF (% MS)					1			
ADF (% MS)						1		
ADL (% MS)							1	
pH								1

Na matriz de correlação apenas se apresentam as correlações estatisticamente significativas, isto é, com  $P < 0,05$ .

Observou-se uma correlação altamente positiva entre os teores de MS e de PB, cinza, de NDF e de pH da silagem de milho. Estas correlações positivas traduzem um aumento dos componentes químicos da silagem quando aumenta a MS da mesma. O teor de PB também apresentou correlação positiva significativa com o teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/N total e de pH, sendo que estes também se correlacionam positivamente entre si.

Por outro lado, o teor de cinza mostrou correlação positiva com o teor de NDF.

O resultado da análise de variância para testar o efeito do silo e da data de recolha da silagem na composição química e no pH da silagem de azevém é apresentado no Quadro 15.

Quadro 15 - Composição química e pH da silagem de azevém em função do silo e da recolha

	Silo 1	Silo 2	Silo 3	Recolha 1	Recolha 2	Recolha 3	Recolha 4	DPM <sup>(1)</sup>	Silo	Recolha <sup>(2)</sup>
MS (%)	23,2 <sup>a</sup>	31,7 <sup>b</sup>	35,2 <sup>b</sup>	31,5	27,5	32,4	28,8	1,80	0,0374	0,3834
PB (% MS)	11,1 <sup>a</sup>	7,0 <sup>b</sup>	7,9 <sup>c</sup>	8,6	8,4	8,8	8,8	0,50	0,0022	0,8366
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> %/N total	2,26 <sup>a</sup>	2,93 <sup>b</sup>	3,65 <sup>c</sup>	3,18	3,06	2,79	2,75	0,17	0,0051	0,2672
Cinza (% MS)	11,6 <sup>a</sup>	10,6 <sup>b</sup>	10,9 <sup>b</sup>	11,1	10,8	11,0	11,3	0,14	0,0171	0,1793
NDF (% MS)	59,6	59,8	58,9	59,3	59,5	59,2	59,9	0,26	0,4643	0,9090
ADF (% MS)	36,6	38,2	37,2	37,1	37,8	37,0	37,5	0,29	0,2152	0,7642
ADL (% MS)	3,8	4,1	3,7	3,8	3,9	3,9	3,8	0,07	0,0576	0,7692
pH	3,83	4,04	4,05	4,02	3,98	4,07	3,82	0,06	0,5956	0,7373

(1)- Desvio padrão da média; (2)- Nível de significância dos valores de F para os efeitos silo e data de recolha; a,b,c: Para cada efeito, os valores afetados por uma mesma letra numa mesma linha não são significativamente diferentes (P>0,05).

O silo onde foi feita a recolha de silagem mostrou efeitos significativos sobre alguns dos constituintes químicos desta. Verificou-se que a composição da silagem de azevém do silo 1 apresentou maiores diferenças comparativamente às silagens dos outros silos. No caso do teor de MS, observou-se um decréscimo de 8 e de 12 pontos percentuais comparativamente às silagens dos silos 2 e 3, no teor de PB um aumento na ordem de 4 e 3 pontos percentuais para as mesmas silagens e o teor de cinza demonstrou um aumento de 1 ponto percentual comparativamente às duas silagens.

Referente ao N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total, houve efeito significativo do silo, verificando-se um aumento de cerca de 0,7 N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total entre as silagens dos silos 1 e 2 e entre as silagens dos silos 2 e 3.

Ainda em relação ao efeito do silo, o teor do ADL mostrou valores tendencialmente mais elevados na silagem do silo 2.

Não foi verificado efeito significativo do silo nem da data de recolha da silagem sobre os teores de NDF, de ADF e de pH, sendo que estes apresentam valores médios, respetivamente, de 59,5 %, 37,4% e 4,0.

Os restantes componentes da silagem de azevém também não sofrem qualquer efeito em função da data de recolha. Entre as recolhas, em média, o teor de MS foi de 31%, a PB de 8,7%, o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total de 3,11, a cinza de 10,9 % e o ADL é de 3,9%.

Com base nos teores de NDF e ADF foi calculado o valor relativo da forragem para a silagem de azevém, expresso no Quadro 16.

Quadro 16 - Valor relativo da forragem (1)de azevém

Silos	ADF (% MS)	NDF (% MS)	VRF
1	36,6	59,6	94
2	38,2	59,8	92
3	37,2	58,9	95

(1) - valor calculado de acordo com FEDNA (2004)

O valor relativo da forragem permite enquadrar as silagens a nível de qualidade, verificando-se que a silagem de azevém encontra-se na terceira categoria de VRF, numa escala até à quarta categoria (FEDNA, 2004). Esta determinação pressupõe os teores de composição química das forragens.

A matriz de correlação entre a composição química e pH da silagem de azevém apresenta-se no Quadro 17, onde constam os coeficientes de correlação significativos (P<0,05) relativamente à composição química e pH da silagem de azevém

Quadro 17 - Matriz de correlação entre os componentes da composição química entre si e pH da silagem de azevém

	MS %	PB (%MS)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> / N total	CINZA (% MS)	NDF (% MS)	ADF (% MS)	ADL (% MS)	pH
MS %	1		0,67299	0,98338	0,99708	0,99174	0,93096	
			0,0329	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	
PB (% MS)		1		0,66015				
				0,0378				
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> / N total			1	0,69301	0,63232			
				0,0263	0,0498			
CINZA (% MS)				1	0,97464	0,95946	0,86317	
					<,0001	<,0001	<,0001	
NDF (% MS)					1	0,99659	0,94733	
						<,0001	<,0001	
ADF (% MS)						1	0,95721	
							<,0001	
ADL (% MS)							1	
pH								1

À exceção do teor PB, a MS apresenta uma correlação positiva com os restantes componentes químicos, assume maior nível de significância para o teor de cinza, de NDF, de ADF e de ADL ( $P < 0,0001$ ).

O teor de  $N-NH_4^+$ %/N total, correlacionou-se positivamente com os teores de cinza e de NDF.

Entre os teores de cinza e os teores de NDF, de ADF e de ADL, verifica-se também uma correlação significativamente positiva ( $P < 0,0001$ ). Os teores do de NDF, de ADF e de ADL estão também correlacionados positivamente entre si ( $P < 0,0001$ ).

O pH da silagem não mostrou correlação significativa com nenhum dos componentes químicos desta.

Quadro 18 - Comparação da composição química e pH da silagem de milho e de azevém em função do silo

Silagem	Milho	Milho	Milho	Azevém	Azevém	Azevém	DPM <sup>(1)</sup>	Silagem	Silo	Silagem X Silo <sup>(2)</sup>
Silo	1	2	3	1	2	3				
MS (%)	36,9 <sup>a</sup>	23,2 <sup>b</sup>	31,5 <sup>a</sup>	22,8 <sup>b</sup>	31,5 <sup>a</sup>	35,0 <sup>a</sup>	1,25	0,6072	0,0092	0,0003
PB (% MS)	7,0 <sup>ad</sup>	8,1 <sup>c</sup>	6,8 <sup>a</sup>	10,8 <sup>b</sup>	6,9 <sup>a</sup>	7,8 <sup>cd</sup>	0,29	0,0002	0,0012	<0,0001
$N-NH_4^+$ %/N total	4,59 <sup>a</sup>	3,06 <sup>c</sup>	2,65 <sup>bd</sup>	2,27 <sup>b</sup>	2,90 <sup>cd</sup>	3,61 <sup>e</sup>	0,16	0,0012	0,0477	<0,0001
Cinza (% MS)	4,5	5,9	5,9	10,9	10,2	10,6	0,60	<0,0001	0,5176	0,0578
NDF (% MS)	42,9 <sup>a</sup>	60,5 <sup>b</sup>	50,3 <sup>c</sup>	59,0 <sup>bd</sup>	59,3 <sup>bd</sup>	58,4 <sup>d</sup>	1,34	<0,0001	<0,0001	<0,0001
ADF (% MS)	21,5 <sup>a</sup>	36,2 <sup>b</sup>	27,4 <sup>d</sup>	35,8 <sup>b</sup>	37,8 <sup>c</sup>	36,8 <sup>bc</sup>	1,28	<0,0001	<0,0001	<0,0001
ADL (% MS)	2,5 <sup>a</sup>	4,0 <sup>bc</sup>	2,3 <sup>a</sup>	3,9 <sup>bc</sup>	4,1 <sup>b</sup>	3,7 <sup>c</sup>	0,17	<0,0001	<0,0001	0,0002
pH	3,99	3,75	3,80	3,85	4,04	4,05	0,04	0,1151	0,9320	0,1223

(1)- Desvio padrão da média; (2)- Nível de significância dos valores de F para os efeitos silo e data de recolha e interação silagemx silo; a,b,c: Para cada efeito, os valores afetados por uma mesma letra numa mesma linha não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).

O silo mostrou efeito significativo sobre a composição química das silagens como foi verificado anteriormente na análise de variância da silagem de milho e silagem de azevém, confirmando-se aqui a mesma importância comparativamente às duas silagens.

Em relação ao efeito silagem X silo, observou-se um efeito muito significativo na composição química das silagens, com exceção do teor de cinza.

A MS foi o único componente químico que não foi afetado pela silagem, sendo o teor médio de MS na silagem de milho de 30,51% e na silagem de azevém de 29,77%. No entanto, observa-se uma clara interação entre a silagem utilizada e o silo. O teor de MS da silagem de milho decresce notavelmente entre a silagem do silo 1 e 2, cerca de 14 pontos percentuais mas teve tendência para aumentar novamente na silagem do silo 3, enquanto a silagem de azevém demonstrou um aumento constante de MS de silo para silo.

Observou-se um forte efeito da silagem e da sua interação com o silo no teor de PB. Esta apenas foi mais elevada na silagem de milho do que na de azevém no caso do silo 2. Na silagem do silo 1 de azevém verificou-se o maior teor de PB, com 4 pontos percentuais de distinção da silagem de milho, e com cerca de 4 e 3 pontos percentuais de diferença entre as silagens dos silos 2 e 3 de azevém. Na silagem do silo 2 de milho verificou-se um aumento de cerca de 1 ponto percentual de PB em relação aos restantes. Foi também na silagem do silo 2 que a silagem de azevém apresentou valores de PB mais baixos.

Verificou-se, também, um efeito significativo da silagem no teor de  $N-NH_4^+ \%$  / N total, bem como da sua interação com o silo, ocorrendo um aumento significativo e progressivo ao longo das silagens nos silos de azevém e o processo inverso nos silos de milho.

Os teores de NDF, de ADF e de ADL foram significativamente influenciados pela silagem, pelos silos onde foram feitas as recolhas e pela interação entre ambos. A silagem de azevém apresentou valores mais elevados destes componentes quando comparada com a silagem de milho. Apenas na silagem do silo 2 constitui uma exceção no que foi respeitante ao valor de NDF, onde a silagem de milho mostrou um acréscimo de 1,12 pontos percentuais. Esta exceção deveu-se ao fato do teor de NDF na silagem de azevém ser constante ao longo dos silos mas haver variação dos teores na silagem de milho com acréscimos de 18 e 10 pontos percentuais no silo 2, comparativamente às silagens dos silos 1 e 3.

O teor de cinza sofreu apenas efeito da silagem, revelando-se sempre mais elevado na silagem de azevém, com um diferencial de cerca de 5 pontos percentuais.

O pH médio foi de 3,98 no caso da silagem de milho e de 3,84 na silagem de azevém. Nenhum dos dois valores foi afetado em função da silagem, silo ou interação entre ambos.

## 4.2. Valor nutritivo das silagens de milho e azevém

No Quadro 19 é apresentado o resultado da análise de variância sobre o efeito do silo e da data de recolha da silagem no valor energético e azotado da silagem de milho.

Quadro 19- Valor nutritivo da silagem de milho em função do silo e da data de recolha

	Silo 1	Silo 2	Silo 3	Recolha 1	Recolha 2	Recolha 3	Recolha 4	DPM <sup>(1)</sup>	Silo	Recolha <sup>(2)</sup>
EB Kcal/kgMS	4345 <sup>ab</sup>	4344 <sup>a</sup>	4311 <sup>b</sup>	4339	4342	4333	4318	7,14	0,0493	0,4132
ED Kcal/kg MS	2964 <sup>ab</sup>	2963 <sup>a</sup>	2940 <sup>b</sup>	2959	2962	2956	2945	4,90	0,0448	0,3911
EM Kcal/kg MS	2471	2459	2451	2461	2463	2462	2456	3,25	0,1059	0,7801
UFL/ kg MS	0,869 <sup>ab</sup>	0,870 <sup>a</sup>	0,863 <sup>b</sup>	0,867	0,870	0,866	0,866	0,002	0,0756	0,5352
PDIA g/ 100gMS	1,84 <sup>a</sup>	2,24 <sup>b</sup>	1,82 <sup>a</sup>	2,05	2,07	1,92	1,83	0,072	0,0026	0,0800
PDIE g/ 100gMS	7,69 <sup>ab</sup>	7,93 <sup>a</sup>	7,60 <sup>b</sup>	7,75	7,82	7,70	7,68	0,058	0,0378	0,5955
PDIN g/ 100gMS	4,17 <sup>a</sup>	5,09 <sup>b</sup>	4,13 <sup>a</sup>	4,65	4,69	4,34	4,16	0,163	0,0024	0,0816

(1)- Desvio padrão da média; (2)- Nível de significância dos valores de F para os efeitos silo e data de recolha; a,b: Para cada efeito, os valores afetados por uma mesma letra numa mesma linha não são significativamente diferentes ( $P>0,05$ )

Verificou-se um efeito significativo do silo sobre os teores de EB, ED, e PDIA, PDIE e PDIN. Os valores de EB e ED revelaram-se mais baixos na silagem do silo 3, com cerca de 34 e 24 kcal/kg MS de diferença para o silo 1 e 3, respetivamente.

No caso dos valores de PDIA, de PDIE e de PDIN, a silagem do silo 2 apresentou valores significativamente mais elevados comparativamente à dos silos 1 e 3. O acréscimo referente ao teor de PDIA foi de 0,40 g/ 100 g MS, de 0,30 g/ 100 g MS no valor de PDIE e de 0,94 g/100 g MS no valor de PDIN.

O valor de UFL tem tendência ( $P=0,0756$ ) para valores mais baixos na silagem de milho do silo 3. A EM foi em média 2460 kcal/kg MS, não sendo significativamente influenciada pelo silo ou pela data de recolha da silagem.

Não se verificou efeito significativo da data de recolha, apenas efeito tendencial da recolha sobre os teores de PDIA e de PDIN, para valores mais baixos nas recolhas do fim do silo.

A análise do efeito do silo e da data da recolha no valor nutritivo da silagem de azevém consta no Quadro 20.

Quadro 20- Valor nutritivo da silagem de Azevém em função do silo e da data de recolha

	Silo 1	Silo 2	Silo 3	Recolha 1	Recolha 2	Recolha 3	Recolha 4	DPM (1)	Silo	Recolha (2)
EB Kcal/ Kg MS	4413	4333	4435	4374	4367	4433	4401	21,95	0,1868	0,7444
ED Kcal/ Kg MS	2918	2865	2932	2892	2887	2931	2910	14,49	0,1895	0,7487
EM Kcal/ Kg MS	2360	2348	2399	2357	2355	2390	2373	12,19	0,2507	0,7707
UFL/k g MS	0,820	0,818	0,838	0,820	0,820	0,833	0,828	0,005	0,2206	0,7692
PDIA g/100 gMS	1,84 <sup>a</sup>	1,16 <sup>b</sup>	1,32 <sup>b</sup>	1,44	1,40	1,46	1,46	0,083	0,0023	0,8752
PDIE g/100 gMS	7,12 <sup>a</sup>	6,61 <sup>b</sup>	6,72 <sup>b</sup>	6,81	6,80	6,83	6,81	0,064	0,0030	0,9603
PDIN g/100 gMS	6,45 <sup>a</sup>	4,06 <sup>b</sup>	4,62 <sup>b</sup>	5,03	4,90	5,13	5,10	0,291	0,0022	0,8304

(1)- Desvio padrão da média; (2)- Nível de significância dos valores de F para os efeitos silo e data de recolha; a,b: Para cada efeito, os valores afetados por uma mesma letra numa mesma linha não são significativamente diferentes ( $P>0,05$ )

O valor energético da silagem de azevém não foi influenciado pelo silo ou pela data de recolha da silagem. Apresentou valores médios de 4393 kcal /Kg MS de EB, de 2905 kcal /Kg MS de ED, 2368 kcal /Kg MS de EM e 0,82 UFL/Kg de MS.

O valor nutritivo apenas sofre efeitos no respeitante ao valor proteico, e apenas, relativamente ao efeito do silo. Este efeito significativo salientou a silagem do silo 1 como a que apresentou valores de PDIA, de PDIE e de PDIN mais elevados comparativamente às restantes silagens.

O teor de PDIA na silagem do silo 1 demonstrou um acréscimo de 0,68 e de 0,52 g/100 g MS relativamente às silagens dos silos 2 e 3, respetivamente. O teor de PDIE demonstrou um acréscimo de 0,51 e de 0,41 g/100 g MS e o PDIN um acréscimo de 2,32 e 1,83 g/100 g MS também relativamente às silagens dos silos 2 e 3.

A comparação do valor nutritivo da silagem de milho e da silagem de azevém em função do silo consta no Quadro 21.

Quadro 21- Comparação do valor nutritivo da silagem de milho e de azevém em função do silo

Silagem	Milho	Milho	Milho	Azevém	Azevém	Azevém	DPM <sup>(1)</sup>	Silagem	Silo	Silagem X Silo <sup>(2)</sup>
Silo	1	2	3	1	2	3				
EB kcal/kg MS	4360 <sup>ab</sup>	4344 <sup>a</sup>	4311 <sup>c</sup>	4398 <sup>ab</sup>	4333 <sup>a</sup>	4435 <sup>b</sup>	12,77	0,0340	0,2431	0,0324
ED Kcal/kgMS	2974 <sup>a</sup>	2963 <sup>a</sup>	2940 <sup>ab</sup>	2908 <sup>bc</sup>	2865 <sup>c</sup>	2932 <sup>ab</sup>	9,81	0,0014	0,2927	0,0315
EM Kcal/kgMS	2479 <sup>a</sup>	2459 <sup>a</sup>	2451 <sup>a</sup>	2353 <sup>bc</sup>	2348 <sup>b</sup>	2399 <sup>c</sup>	12,08	<0,0001	0,2569	0,0442
UFL/kg MS	0,872 <sup>a</sup>	0,870 <sup>a</sup>	0,863 <sup>a</sup>	0,817 <sup>b</sup>	0,818 <sup>b</sup>	0,838 <sup>c</sup>	0,005	<0,0001	0,4152	0,0240
PDIA g/100gMS	1,89 <sup>a</sup>	2,24 <sup>b</sup>	1,82 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,16 <sup>c</sup>	1,32 <sup>d</sup>	0,092	<0,0001	0,0042	<0,0001
PDIE g/100MS	7,71 <sup>a</sup>	7,93 <sup>b</sup>	7,60 <sup>a</sup>	7,09 <sup>c</sup>	6,61 <sup>d</sup>	6,72 <sup>d</sup>	0,123	<0,0001	0,0052	0,0001
PDIN g/100gMS	4,31 <sup>ad</sup>	5,09 <sup>b</sup>	4,13 <sup>a</sup>	6,30 <sup>c</sup>	4,06 <sup>a</sup>	4,62 <sup>d</sup>	0,164	0,0028	0,0009	<0,0001

(1)- Desvio padrão da média; (2)- Nível de significância dos valores de F para os efeitos silo e data de recolha; a,b: Para cada efeito, os valores afetados por uma mesma letra numa mesma linha não são significativamente diferentes (P>0,05)

A análise do Quadro 21 mostrou que a silagem de milho revelou maior valor energético do que a silagem de azevém. Assim, os teores de ED, EM e UFL foram superiores na silagem de milho. Contudo, este efeito varia consoante o silo onde foram feitas as recolhas de silagem, com diferenças mais notórias nas silagens dos silos 1 e 2. No caso da ED a diferença entre as silagens foi mais acentuada no silo 2, em 98 kcal/kg MS, bem como o UFL/kg MS com mais 0,055 na silagem de milho. Já a EM foi mais elevada na silagem referente ao silo 1, com mais 126 kcal/kg MS na silagem de milho.

Da mesma forma, a silagem de milho mostrou maior valor azotado do que a silagem de azevém e, mais uma vez, o silo influenciou estas diferenças, com a superioridade da silagem de milho evidenciada no silo 2. As diferenças foram significativas para os teores de

PDIA, PDIAE e PDIN, com acréscimo de 1,08 g/100 g MS de PDIA e 1,32 g/ 100 g MS de PDIN no caso do silo 2 e de 1,99 g/100 g MS no silo 1.

Uma vez que a amplitude das diferenças do valor nutritivo da silagem de milho e de azevém variou de silo para silo, a interação silagem X silo foi estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) para todas as variáveis analisadas.

### 4.3. Produção de gás com as silagens de milho e azevém

Foram realizadas duas incubações, onde cada incubação conteve amostras do início e do fim de um silo de milho e de um silo de azevém. Com esta técnica determinou-se o volume total de gás produzido durante as 96 horas da incubação.

Para a modelação da produção de gás em cada incubação utilizou-se a equação logística ( $Y = a(1 + e^{-k \cdot t})^{-m}$ ). As equações assim calculadas estão representadas no Quadro 22.

Quadro 22 - Modelação da produção de gás da silagem de milho e de azevém retirados no início e no fim do silo 1

	Equação <sup>(1)</sup>	Significância <sup>(2)</sup>
<b>Silagem de milho</b>		
<b>Início do silo</b>	$Y = 35,9069(1 + e^{-0,1141t})^{-4,6263}$	<0,0001
<b>Final do silo</b>	$Y = 25,3700(1 + e^{-0,0820t})^{-3,4333}$	<0,0001
<b>Silagem de azevém</b>		
<b>Início do silo</b>	$Y = 42,1440(1 + e^{-0,0900t})^{-3,8371}$	<0,0001
<b>Final do silo</b>	$Y = 36,9383(1 + e^{-0,0829t})^{-3,3404}$	<0,0001

(1) -  $Y$  = Produção de gás (ml/200 mg MS),  $t$  = Tempo de incubação (horas); (2) - Nível de significância do valor de F do modelo

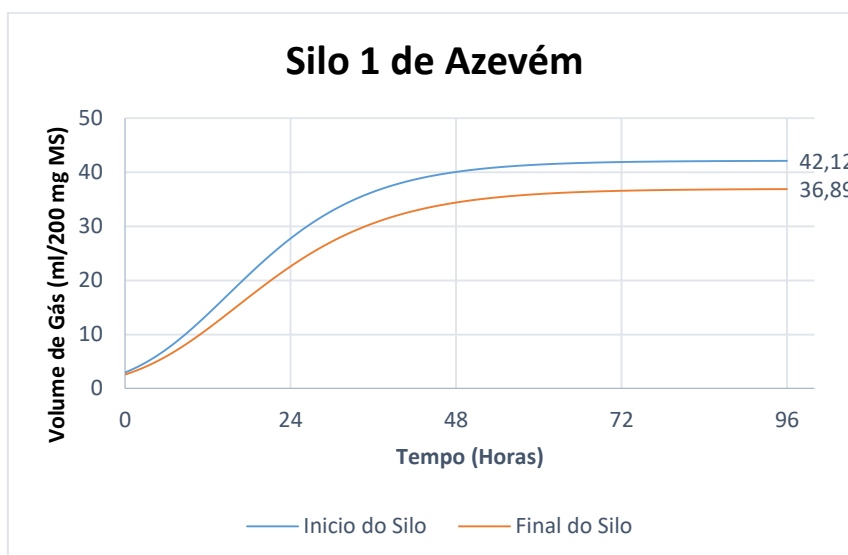
Nas Figuras 7 e 8 foram ilustrados os gráficos da produção de gás com base nas equações logísticas anteriormente apresentadas. Ambos os gráficos ilustram que o modelo de produção de gás apresentou um tempo de latência, uma fase exponencial crescente, um ponto de inflexão e, de seguida, uma fase exponencial decrescente.



**Figura 7** - Volume de produção de gás do silo 1 de milho na incubação 1

Na silagem do silo 1 de milho o ponto de inflexão da curva de produção de gás (m) ocorre ligeiramente mais tarde no início do silo do que no fim, isto é, às 4,63 horas e às 3,43 horas, respetivamente.

As amostras de silagem de milho retiradas no início do silo revelaram um potencial máximo de produção relativamente superior ao potencial máximo de produção de gás do fim do silo, traduzindo-se num maior volume de gás produzido. No início do silo, o volume de gás produzido durante toda a incubação foi de 35,90 ml/200 mg MS e no fim do silo foi de 25,34 ml/200 mg MS.



**Figura 8** - Volume de produção de gás do silo 1 de azevém na incubação 1

No início do silo 1 de azevém, o potencial máximo de produção de gás é mais elevado do que no fim do mesmo silo (Figura 8). No entanto, este diferencial tem uma amplitude inferior à verificada com a silagem de milho (Figura 7), também demonstrado pelo volume de gás

produzido relativamente a este silo. O volume de gás produzido foi de 42,12 ml/200 mg MS no início e de 36,9 ml/200 mg MS no fim.

Relativamente aos pontos de inflexão, no início e no fim do silo 1 de azevém, foram muito próximos, sendo que no início decorreu às 3,83 horas e no fim às 3,34 horas.

Na segunda incubação, foram estimadas as mesmas equações de produção de gás mas relativamente ao silo 2 de milho e ao silo 2 de azevém.

Quadro 23- Modelação da produção de gás da silagem de milho e de azevém retirados no início e fim do silo 2

	Equação <sup>(1)</sup>	Significância <sup>(2)</sup>
<b>Silagem de milho</b>		
<b>Início do silo</b>	$Y=67,9039(1+e^{-0,0981t})^{-3,5020}$	<0,0001
<b>Final do silo</b>	$Y=57,4803(1+e^{-0,0800t})^{-2,8107}$	<0,0001
<b>Silagem de azevém</b>		
<b>Início do silo</b>	$Y=73,9348(1+e^{-0,0835t})^{-3,0726}$	<0,0001
<b>Final do silo</b>	$Y=68,9586(1+e^{-0,0800t})^{-2,8344}$	<0,0001

(1) - Y= Produção de gás (ml/200 mg MS), t= Tempo de incubação (horas); (2) - Nível de significância do valor de F do modelo.

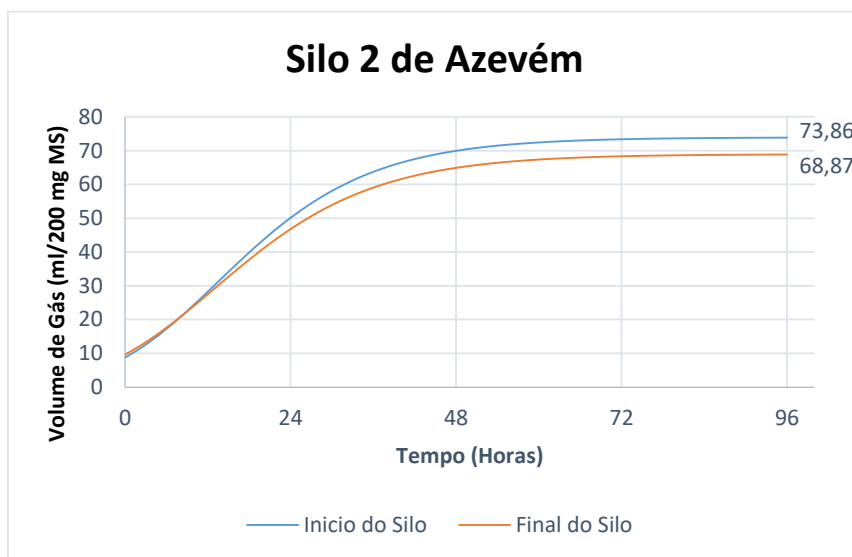
As Figuras 9 e 10 representam a produção de gás dos silos na segunda incubação, igualmente com duração de 96 horas.



Figura 9 - Volume de produção de gás do silo 2 de milho na incubação 2

Verifica-se que o volume de produção de gás é bastante elevado no silo 2 de milho, com cerca de 67,88 ml/200 mg MS no início do silo e de 57,41 ml/200 mg MS no fim do silo.

O ponto de inflexão da produção de gás do silo 2 de milho, no início foi às 3,5 horas e no fim decorreu às 2,8 horas.



**Figura 10** - Volume de produção de gás do silo 2 de azevém na incubação 2

Relativamente às amostras do silo 2 de azevém, o volume de gás produzido revelou-se bastante elevado e superior ao volume produzido pelas amostras de milho do silo 2.

No silo 2 de azevém, o potencial máximo de produção e o volume de gás produzidos foram elevados apresentando valores idênticos entre o início e o fim do silo, sendo que o volume de gás produzido foi de 73,86 ml/200 mg MS no início do silo e de 68,87 ml/200 mg MS no fim do silo.

No Quadro 24 consta a análise de variância relativa ao efeito do silo, data de recolha e tipo de silagem sobre os parâmetros das curvas de produção de gás.

Quadro 24 - Parâmetros da produção de gás em função do silo, data de recolha e tipo de silagem

	Silo 1	Silo 2	Recolha Inicial	Recolha Final	Silagem Milho	Silagem Azevém	DPM <sup>(1)</sup>	Efeito Silo	Efeito Recolha	Efeito Silagem <sup>(2)</sup>
a <sup>(3)</sup>	35,44	48,80	42,75	41,50	43,08	41,16	2,47	0,006 1	0,7825	0,6739
m <sup>(4)</sup>	3,77	4,75	4,30	4,21	4,33	4,18	0,13	<0,000 1	0,6355	0,4642
k <sup>(5)</sup>	0,092	0,104	0,099	0,097	0,104	0,092	0,0036	0,0880	0,7392	0,0848

(1) - Desvio Padrão da Média; (2) - Probabilidade de significância dos valores de F para os efeitos silo, data de recolha e tipo de silagem. Para todas as variáveis as interações Silo X Recolha, Silo X Silagem e Recolha X Silagem: NS; (3) - a: Potencial máximo de produção de gás (ml/200mg de MS); (4) - m: Parâmetro que traduz o ponto de inflexão da curva (tempo de latência da incubação), (horas); (5) - k: Taxa de produção de gás (ml/horas).

Verificou-se um efeito significativo do silo nos parâmetros de produção de gás, mais propriamente no potencial máximo de produção de gás (a) e no parâmetro que traduz o ponto de inflexão da curva (m). O potencial máximo de produção de gás foi superior em 13 ml/200 mg de MS no silo 2 em relação ao silo 1 mas o ponto de inflexão ocorre 1 hora mais cedo no silo 1. No caso da taxa de produção, verificou-se apenas uma tendência para valores mais elevados no silo 2 (P=0,088).

Não houve qualquer efeito da data de recolha do silo na produção de gás durante as fermentações, sendo que (a) apresentou um valor médio de 42,12 ml/200mg de MS, o (m) apresenta média de 4,25 horas e o (k) de 0,098 ml/horas, ou seja, não ocorreram diferenças significativas no modelo de produção de gás entre as amostras retiradas no início e no fim do silo.

No caso do tipo de silagem utilizada, não se verificou efeito significativo, apenas uma tendência no que respeitante à taxa de produção de gás, com valores mais elevados para a silagem de milho.

#### 4.4. Composição química da feno-silagem de azevém

Os resultados da composição química e do pH das feno-silagens analisadas encontram-se no Quadro 25.

Quadro 25 - Composição química da feno-silagem em função da data da recolha, 2016

Recolha	MS %	PB (% MS)	Cinza (% MS)	NDF (% MS)	ADF (% MS)	ADL (%MS)	pH
24/02	31,3	11,1	7,8	61,9	35,8	4,3	4,1
29/02	15,0	9,6	8,2	64,8	39,4	4,5	4,5
9/03	38,8	7,8	7,7	66,6	40,4	4,6	4,2
16/03	33,7	9,4	7,4	68,5	39,6	4,4	4,4
21/03	39,0	8,5	8,5	59,4	36,3	4,6	5,2
29/03	37,2	10,2	9,3	59,4	34,4	3,7	4,6
6/04	44,2	8,6	11,0	59,0	36,3	2,8	5,5
12/04	40,8	9,2	10,1	59,5	36,4	3,2	4,9
16/06	47,1	6,0	10,5	58,8	35,0	3,8	4,8
22/06	26,8	11,3	13,2	59,6	38,9	4,1	4,5
27/06	34,3	9,5	11,6	56,8	35,9	4,0	4,5
4/07	53,6	7,4	9,2	58,8	36,9	3,7	5,1
11/07	50,0	7,5	9,2	51,4	34,4	5,0	5,2
15/07	57,6	5,2	8,9	58,6	31,4	3,3	5,4
20/07	57,4	5,2	7,2	53,2	33,2	3,8	4,8
27/07	40,1	8,0	9,0	59,8	37,0	3,8	4,4

A composição química da feno-silagem revelou-se muito variável no que diz respeito aos teores de MS, podendo variar entre 15,0 e 57,6% e com um valor médio de 40,4%.

Os valores de cinza mostraram-se ligeiramente variáveis entre recolhas mas, essa variabilidade não acompanhou a variabilidade dos teores de MS. No mesmo sentido da variabilidade da cinza, o teor de PB também oscilou ao longo do tempo, sem nenhum padrão definido, tendo como média 8,4% MS.

Relativamente aos teores de NDF, ADF e ADL, estes apresentaram valores bastante uniformes, com médias de 59,7%, 36,3% e 4,0% , respetivamente.

De igual forma o pH também não variou muito tendo valor um médio de 4,7.

Foi clara a variação da MS ao longo do tempo, mas os restantes componentes expressos em % de MS apresentaram menor variação.

#### **4.5. Composição química do leite**

Com base nos resultados da composição do leite foi feita uma análise de variância para determinar o efeito da variação da composição das silagens, em função do silo e da data de recolha, sobre a composição do leite das vacas alimentadas com estas silagens (Quadro 26).

Tanto no caso da silagem de milho como na de azevém, a composição do leite não sofreu variação significativa pelo facto das vacas serem alimentadas com silagens provenientes dos 3 silos estudados. Assim, as médias dos componentes do leite referentes à alimentação com silagens dos três silos foram de 3,68% de MG, 3,25% de MP, 4,91% m/m de lactose, 8,77% de ESD, 230 mg/kg de ureia e 137 cs/ml \*1000.

O efeito da data de recolha da silagem foi significativo sobre o teor de lactose do leite. Assim, as vacas alimentadas com silagem retirada do primeiro quarto do silo tiveram um decréscimo de 0,09 % de lactose, em relação aos restantes quartos do silo. Os outros constituintes do leite analisados não sofreram qualquer tipo de efeito ou tendência em função da data de recolha da silagem.

Relativamente às silagens utilizadas, quando a alimentação das vacas foi à base de silagem de azevém verificou-se um aumento de 13 pontos percentuais no teor de MP e um decréscimo de 16 mg/kg no teor de ureia, comparativamente à alimentação das vacas com silagem de milho.

Em função das silagens observou-se ainda um efeito tendencial na MG com o aumento do teor em 0,30 pontos percentuais para a silagem de azevém e aumento da lactose em 0,05 pontos percentuais favorecendo a silagem de milho.

Quadro 26 - Composição do leite em função do silo e da data de recolha da silagem

	Silo 1	Silo 2	Silo 3	Recolha 1	Recolha 2	Recolha 3	Recolha 4	Silagem Milho	Silagem Azevém	Silo <sup>(1)</sup>	Recolha <sup>(1)</sup>	Silagem <sup>(1)</sup>
MG (%)	3,70	3,71	3,64	3,57	3,75	3,73	3,68	3,53	3,83	0,9395	0,7720	0,0715
MP (%)	3,27	3,23	3,25	3,21	3,25	3,28	3,27	3,19	3,32	0,8257	0,7281	0,0287
Lactose (%)	4,89	4,92	4,93	4,86 <sup>a</sup>	4,93 <sup>b</sup>	4,92 <sup>b</sup>	4,95 <sup>b</sup>	4,94	4,89	0,4483	0,0047	0,0623
ESD (%)	8,80	8,76	8,77	8,66	8,79	8,84	8,81	8,71	8,84	0,9442	0,2535	0,1466
Ureia (mg/kg)	224	222	246	235	247	214	226	243	218	0,3005	0,2685	0,0400
CCS (cs/ml* 1000)	142	141	127	134	119	166	129	145	129	0,8600	0,5274	0,4363

(1)- Probabilidade de significância dos valores de F para os efeitos silo, data de recolha e tipo de silagem. Para todas as variáveis as interações Silo X Recolha, Silo X Silagem e Recolha X Silagem: NS; MG – matéria gorda; MP – matéria proteica; ESD – extrato seco desengordurado; a,b – as médias afetadas por uma mesma letra numa mesma linha não são significativamente diferentes (P>0.05).

## 5. Discussão de resultados

### 5.2. Composição química da silagem de milho

Os teores de MS e dos restantes componentes químicos da silagem de milho mostraram-se concordantes com Dhiman *et al.* (2000), FEDNA (2004) e Benchaar *et al.* (2014).

Relativamente à silagem de milho, o silo 1 foi preenchido com forragem de milho proveniente de uma cultura, contrariamente aos silos 2 e 3 que foram preenchidos nas mesmas datas e com a mesma cultura. A silagem dos silos 1 e 2 manteve-se fechada hermeticamente durante 5 meses e a silagem do silo 3 durante 6 meses.

Em relação ao efeito do silo de recolha, a silagem do silo 2 apresentou os teores de MS mais baixos (23,4%), mas teores mais elevados de PB (%MS), cinza (%MS), NDF (%MS), ADF (%MS) e ADL (%MS), comparativamente às silagens dos silos 1 e 3. Tal está de acordo com os valores propostos pelo FEDNA (2004), que demonstraram a mesma relação entre o teor de MS e a restante composição química, quando comparadas uma silagem de milho com 27,5% de MS com outras que apresentaram 32,5% e 35% de MS e menores teores dos constituintes químicos mencionados.

As diferenças verificadas na silagem do silo 2 comparativamente às restantes podem dever-se a vários fatores sobre os quais não foi possível obter informação, como o estado de maturação das diferentes culturas aquando do corte, o clima no dia de ensilagem, a pré-secagem caso tenha ocorrido e a sua duração, o tipo de aditivos utilizados, a fertilização, o tipo de solo e mesmo a cultivar do milho. Todos estes fatores podem ter variado podendo ser os principais causadores de diferenças nos constituintes químicos das silagens produzidas.

O pH varia entre silos mas não num mesmo silo, o que demonstra estabilidade da silagem de milho. Os valores médios de pH, entre 3,75 e 4,0, nas silagens dos três silos analisados, demonstraram a boa qualidade da silagem. A correlação positiva entre MS e pH, demonstrou que o pH se adapta aos teores de MS, uma vez que o pH ótimo de cada silagem varia de acordo com o teor de MS das silagens. Este resultado é também consistente com Dhiman *et al.* (2000), Queiroz *et al.* (2012), Dulphy e Demarquilly (1981) e os dados do FEDNA (2004). Segundo os dados do FEDNA. (2004), quando a silagem apresenta MS de 20-25% deve apresentar pH cerca de 3,78, MS de 30-35% apresentar pH 3,8 e quando MS superior a 35% o pH dever ser cerca de 3,9. No entanto, os valores de pH apresentados são inferiores para os teores de MS apresentados por Dulphy e Demarquilly (1981) e do ITCF (1978), reforçando a ideia de uma silagem de boa qualidade e também de ótima conservação.

Apesar dos valores de azoto amoniacal serem estatisticamente diferentes entre as silagens dos 3 silos de milho, encontram-se dentro da categoria de excelência, com valores médios inferiores a 5% de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em N total, segundo Dulphy e Demarquilly (1981).

Tanto o pH como o teor de azoto amoniacal traduzem a conservação do material ensilado, revelando assim uma correlação significativa entre eles. A correta conservação implica a descida do pH e também baixas concentrações de azoto amoniacal.

Verificou-se ainda a ausência do efeito da data da recolha, isto é, da fase de utilização do silo em que foi recolhida a amostra, exceto no teor de ADL. Todavia os valores dos constituintes parietais foram consistentes entre si, o que revela que este valor pode ter sofrido erro experimental. O fato de não se verificar efeito da data de recolha da amostra demonstra também a estabilidade dos silos e o correto processo de ensilagem. Este efeito é consistente com o fato do tempo de utilização dos três silos ser idêntico, sendo consumidos em aproximadamente 25 dias e estando permanentemente abertos, com a superfície de retirada da silagem em contacto com o ar.

### **5.3. Composição química da silagem de azevém**

A análise da composição química da silagem de azevém revelou um efeito do silo, ou seja, o efeito das condições do processo de ensilagem e do tempo de permanência no mesmo, destacando a silagem do silo 1, por apresentar maiores diferenças a nível de MS, PB, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total e cinza relativamente às restantes. As condições de preparação da silagem foram idênticas visto que os três silos foram preenchidos simultaneamente e com forragem proveniente da mesma cultura. Contudo, as silagens dos silos 1 e 2 estiveram fechadas hermeticamente durante 1 mês e a silagem do silo 3 esteve fechada 2 meses até utilização.

A silagem do silo 1 revelou teor de MS consideravelmente inferior às silagens dos silos 2 e 3, contrariamente aos teores de PB, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total e cinza, expressos em % de MS, que nesta silagem foram substancialmente superiores. O silo com esta silagem conteve metade da quantidade de silagem dos restantes, esteve fechado menos 1 mês e foi consumida em apenas duas semanas.

Os valores de MS, PB e cinza, na silagem do silo 1 de azevém estiveram de acordo com os valores do FEDNA (2004), com relativamente baixo teor de MS e elevados teores de PB e cinza expressos em % de MS.

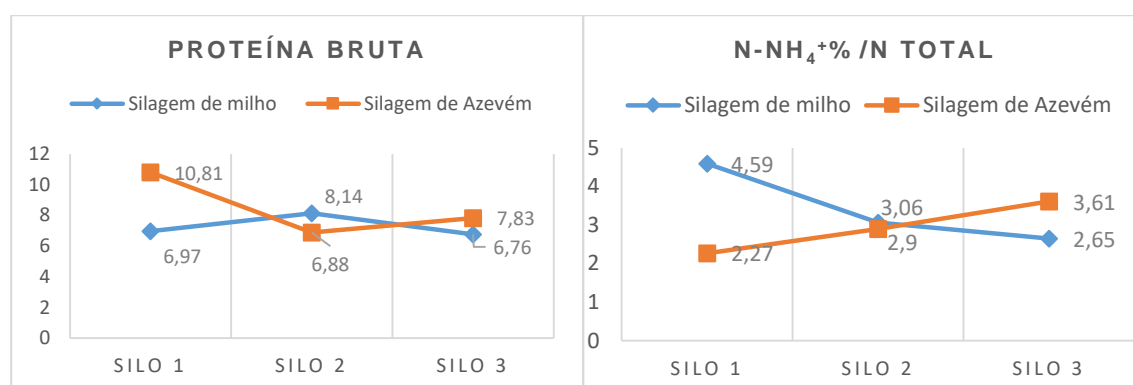
Os valores dos componentes químicos na silagem do silo 3 não estiveram de acordo com os valores apresentados por Cooke *et al.* (2008) quando o teor de MS foi mais elevado, possivelmente porque o azevém do seu estudo foi cortado em estado de maturidade avançado e foi seco até teor de MS de 40%.

Os resultados do azoto amoniacal foram excelentes visto que em nenhum silo este valor excede os 4% de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total e o valor máximo para a silagem ser considerada de excelente qualidade a este nível é 7% do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em N total (Dulphy e Demarquilly, 1981).

#### 5.4. Comparação da composição química da silagem de milho e da silagem de azevém

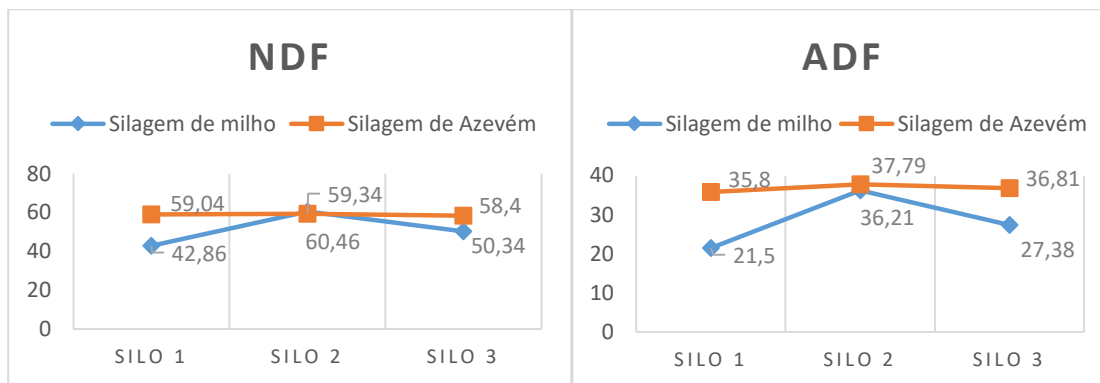
Com este efeito verificaram-se diferenças entre os teores de MS, PB, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total, cinza, NDF, ADF e ADL, favorecendo maioritariamente a silagem de azevém a nível de PB, cinza e constituintes parietais. Verificou-se uma forte interação entre as silagens e os silos produzidos demonstrando que as condições de preparação da silagem em cada silo podem sobrepor-se à origem botânica da forragem ensilada, como é possível verificar nas Figuras 11 e 12.

As silagens de milho apresentaram uma menor amplitude de valores de PB entre os diferentes silos analisados comparativamente às silagens de azevém. Este diferencial não foi espectacular uma vez que as silagens de milho apresentaram variabilidade entre processos de ensilagem e culturas do que as silagens de azevém que foram realizadas simultaneamente com forragem proveniente da mesma cultura. Desta forma, foi possível verificar que o efeito silo teve mais influencia no teor de PB da silagem de azevém.



**Figura 116** - Teor de PB e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total das silagens de milho e azevém de acordo com os silos estudados

O teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>%/N total, em ambas as silagens, apesar da variabilidade, apresentou valores bastante favoráveis revelando a excelente conservação das forragens, independentemente da origem botânica das forragens, do processo de ensilagem ou da época do ano de ensilagem.



**Figura 12** - Composição de NDF e ADF das silagens de milho e de azevém consoante os silos analisados

O modelo de variação do NDF e do ADF foi idêntico, demonstrando valores mais elevados e constantes na silagem de azevém (Figura 12). Foi possível observar a linearidade entre os valores apresentados pela silagem de azevém, revelando assim a diminuta influência do silo sobre estes constituintes.

A variabilidade entre as silagens e os diferentes silos foi originária da natureza das forragens, do processo de ensilagem bem como a todos os fatores referidos anteriormente como o estado de maturação das diferentes culturas aquando o corte, o clima no dia de ensilagem, a pré-secagem caso tenha ocorrido e a sua duração, o tipo de aditivos utilizados, fertilização e tipo de solos, entre outros.

Concluindo, apesar das silagens de milho e azevém sofrerem efeito das condições do processo de ensilagem, sendo uns componentes mais sensíveis do que outros, apresentam elevada qualidade e foram bem conservadas.

## 5.5. Valor nutritivo da silagem de milho

Neste estudo o valor nutritivo da silagem de milho foi estudado em função do valor energético e proteico. Assim, para expressar o valor energético calculou-se a EM, ED e UFL/Kg MS, o valor azotado foi traduzido pelo calculo de PDIA, PDIE, PDIN.

Os valores energéticos foram em média 4333 Kcal/kg MS de EB (18,14Mj/kg MS), 2955 Kcal/kg MS de ED (12,37 Mj/kg MS), 2460 Kcal/kg MS de EM (10,299 Mj/kg MS), estando de acordo com Cabrita *et al.* (2003), Queiroz *et al.* (2012), Rezaei *et al.* (2015). A energia Net, expressa em UFL foi em média de 0,86 UFL/kg de MS, valor concordante Abreu (2000).

O processo de ensilagem bem como o tempo de permanência da mesma nos silos, teve efeito sobre a ED da silagem e valor proteico.

A nível proteico, a silagem do silo 2 de milho apresentou maior valor comparativamente às silagens dos silos 1 e 3. Esta diferença relaciona-se com a composição química das silagens, uma vez que o valor proteico expresso em PDIs é determinado em função da

composição química das mesmas. Portanto, seria de esperar este diferencial entre as silagens dos silos referidos.

### **5.6. Valor nutritivo da silagem de azevém**

O valor energético da silagem de azevém não sofreu efeito em função do silo ou da data das colheitas no silo, apresentando valores adequados para a silagem de azevém.

Os valores médios são de 4393 kcal /Kg MS de EB, 2905 kcal /Kg MS de ED, 2368 kcal /Kg MS de EM, isto é, 9,91 Mj/kg de MS. Este último valor corresponde a uma silagem entre a primeira e a segunda categoria de valor relativo da forragem de acordo com os dados disponibilizados pelo FEDNA (2004).

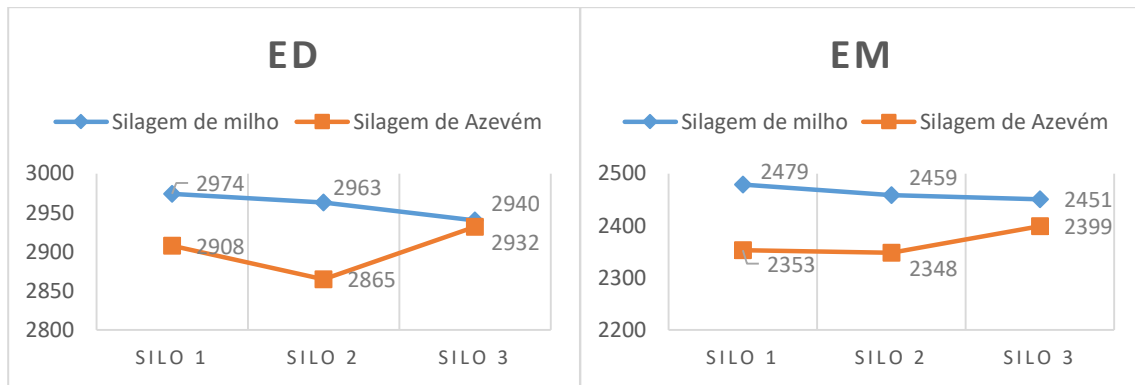
A nível proteico, utilizando a mesma base de comparação, verificou-se que os valores de PDIA, PDIE e PDIN em ambos os silos foram inferiores aos valores médios apresentados para a terceira classe de VRF, verificando-se elevado efeito do processo de ensilagem sobre estes valores. Estes baixos valores de PDIA e PDIN indicam que a síntese de proteína microbiana que é digerida no intestino delgado pode ter sido limitada pela fração de N na silagem de azevém.

### **5.7. Comparação do valor nutritivo da silagem de milho e de azevém**

A silagem de milho apresentou valor energético e azotado superior à silagem de azevém, em função da sua composição química. O maior valor energético da silagem de milho foi verificado em todos os silos estudados, não sendo verificado efeito do silo das colheitas, apenas o efeito da sua interação com a silagem.

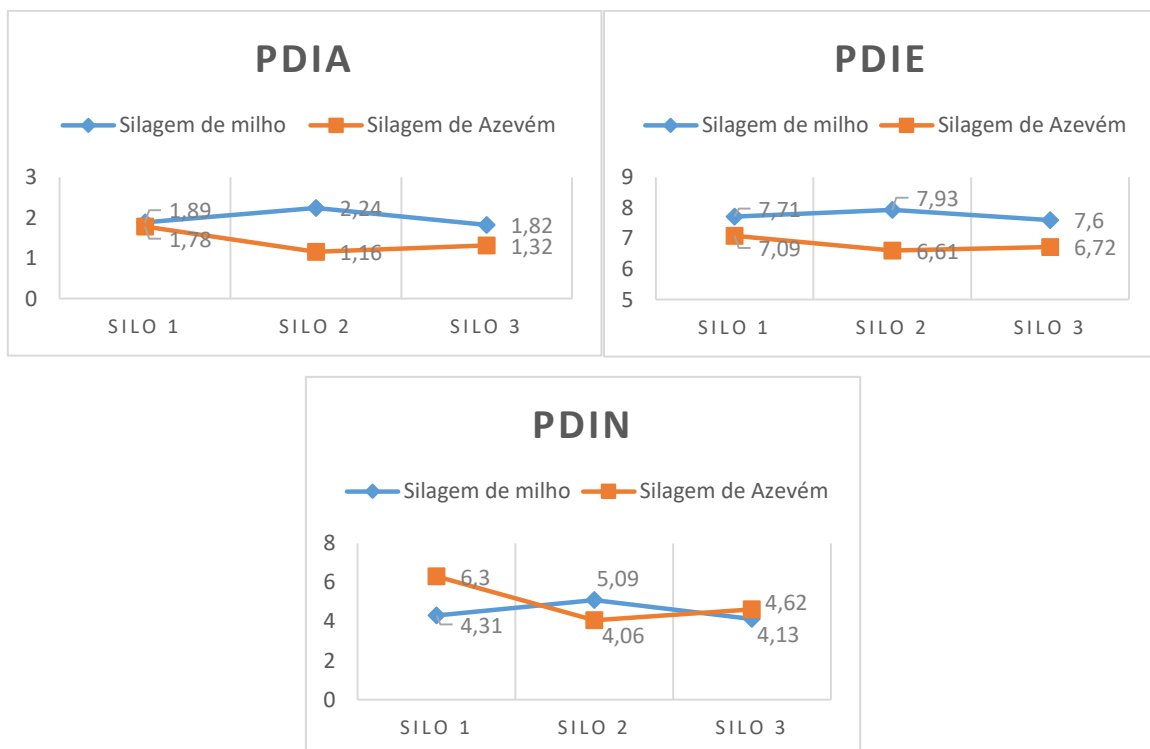
As silagens de milho tiveram substancialmente mais tempo ensiladas do que as silagens de azevém, com um diferencial de 4 meses, traduzindo assim efeito do processo de preparação das silagens e tempo de armazenamento. Os silos 1 e 2 de milho permaneceram fechados durante 5 meses e silo 3 cerca de 6 meses, enquanto os silos 1 e 2 de azevém permaneceram em fecho hermético apenas 1 mês e o silo 3, 2 meses.

Relativamente ao efeito da interação da silagem x silo, tanto sobre o valor energético como sobre o valor proteico, verificou-se que a origem botânica das silagens se sobrepôs às condições do processo de ensilagem, independentemente dos silos estudados.



**Figura 137** - Comparação do valor energético das silagens de milho azevém em função dos silos analisados

Finalmente, o maior valor proteico da silagem de milho foi mais evidente no segundo silo de recolha das amostras, demonstrado pela maior amplitude das diferenças, pelo que existe interação significativa entre a natureza da silagem e o silo de recolha. Este resultado demonstra que as condições de preparação das silagens e tempo de ensilagem foram determinantes para o valor proteico das silagens estudadas mas que a origem botânica se sobrepôs a estas variações, como se pode verificar na Figura 14.



**Figura 84** - Valor nutritivo das silagens de milho e de azevém em função dos silos

## 5.8. Produção de gás *in vitro*

O silo de onde foram feitas as recolhas ou mais propriamente, o processo de ensilagem e o tempo de armazenamento, teve efeito sobre o potencial máximo de produção de gás e o ponto de inflexão da curva de produção traduzindo o tempo de latência. O resultado deste efeito demonstrou que as silagens dos silos 2 de milho e 2 de azevém apresentaram maior produção de gás, isto é, fermentescibilidade. Porém, o ponto de inflexão da curva de produção ocorreu mais tardiamente comparativamente às silagens dos silos 1 de milho e de azevém, sendo que a degradação destes últimos inicia-se mais cedo.

Verificou-se a existência de um efeito entre os silos das mesmas silagens mas ausência do mesmo entre as silagens de milho e azevém, o que pode dever-se ao efeito da incubação, uma vez que na primeira incubação foram utilizadas amostras do silo 1 de milho e do silo 1 de azevém e na segunda incubação amostras do silo 2 de milho e do silo 2 de azevém. Como em ambas as incubações a silagem de azevém produziu maior volume de gás do que a silagem de milho, o efeito das silagens sobre a produção de gás *in vitro* pode ter sido inibido pelo efeito das incubações. A maior produção de gás durante a fermentação da silagem de azevém traduz a sua maior fermentescibilidade, uma vez que a produção de gás no rúmen é proporcional à quantidade de alimento degradado (McDonalds *et al.*, 2011).

Ambas as incubações foram realizadas com as mesmas quantidades de silagens e com os mesmos alimentos controlo, mas o licor de rúmen utilizado foi proveniente de diferentes recolhas, demonstrando também o efeito da origem do licor de rúmen sobre as incubações. Para a primeira incubação, o licor de rúmen foi recolhido de dois carneiros e misturado e para a segunda incubação o licor de rúmen foi recolhido apenas de um carneiro.

Desta forma, podemos concluir que o efeito dos silos e o efeito das silagens sobre a produção de gás *in vitro* podem não ter sido expostas da melhor forma devido ao efeito da origem do licor de rúmen.

## 5.9. Produção de leite

A data das recolhas das amostras de silagem apenas teve efeito significativo sobre o teor de lactose do leite. Contudo, a lactose é o parâmetro menos influenciável pela alimentação das vacas leiteiras e está dentro dos parâmetros normais. Desta forma, esta variação significativa não pode ser associada à qualidade das silagens, principalmente porque a alimentação é fornecida em sistema de *unifeed*.

As condições de preparação da silagem e o tempo de permanência da silagem no silo, traduzidas pelo efeito silo não influenciam a composição química do leite, uma vez que com base nas características do material ensilado o *unifeed* foi ajustado de forma a cobrir todas as

necessidades da vaca para manter a sua eficiência produtiva. Mais especificamente, a percentagem de inclusão da silagem e dos restantes constituintes do *unifeed* é alterada diariamente, com base no teor de MS das silagens.

Contudo verifica-se um efeito estatisticamente significativo das silagens utilizadas na alimentação das vacas leiteiras sobre os teores de matéria proteica e ureia do leite produzido. Faz sentido que, tal como o teor de matéria proteica, a ureia também seja influenciada significativamente em função da silagem utilizada, uma vez que ambos os teores são influenciados pelo teor de PB na alimentação (Roche e Dalley, 1996; McDonald *et al.*, 2011).

O teor de ureia é mais elevado quando os animais foram alimentados à base de silagem de milho, este diferencial poderia sugerir maior suplementação de proteína nas dietas, contudo esta teoria não é suportada pelos valores de matéria proteica do leite, que estão de acordo com os valores propostos pelo Diário da República.

Estes resultados permitem concluir que quando se substitui a silagem de milho por silagem de azevém, a alteração da composição do *unifeed* não permitiu manter constante a MP e a ureia no leite.

## 6. Conclusões

A análise às silagens de milho e de azevém nos diferentes silos demonstrou a elevada qualidade das mesmas. Foi possível verificar um efeito do processo de ensilagem das forragens nos silos onde foram feitas as recolhas sobre a composição química, valor nutritivo, produção de gás *in vitro* e degradabilidade ruminal, em ambas as silagens.

O valor nutritivo superior das silagens de milho demonstrou a sua correlação com a composição química das silagens.

Relativamente à produção de gás verificou-se, mais uma vez que o processo de preparação da silagem, traduzido pelo efeito silo, sobrepôs-se à origem botânica da forragem e à data de recolha da silagem. Assim, não houve diferenças significativas entre a silagem de milho e silagem de azevém nos diferentes parâmetros que traduzem a fermentação *in vitro* destas silagens.

As silagens de milho e azevém apresentaram teores de composição química relativamente distintos. Contudo verificou-se que ambas apresentaram elevada qualidade e foram bem conservadas, preservando assim os seus constituintes. A curto prazo, a inclusão das mesmas na alimentação animal, não provocou alterações significativas na qualidade e composição do leite. Tal poderá dever-se ao fato do *unifeed* ser alterado diariamente com base nos teores de matéria seca das silagens, de forma a que as dietas tenham, se possível, o mesmo valor nutritivo e teores proteicos e lipídicos semelhantes. Contudo, esta alteração não foi suficiente para manter os teores de matéria proteica e ureia constantes no leite quando se substitui a silagem de milho por silagem de azevém.

Apesar da falta de informação relativamente ao estado de maturação das culturas aquando do corte, informação sobre a pré-secagem, a utilização de aditivos, fertilização e cultivares podemos concluir que respeitando as boas práticas de ensilagem como a fase de corte das culturas, secagem, transporte, preenchimento e rápido fecho hermético, fermentação láctica adequada, tempo de armazenamento, conservação e condições de utilização adequadas, foi possível obter silagens com qualidade para a inclusão na alimentação animal.

## 7. Referências bibliográficas

- Abreu, J.M., Bruno-Soares, A.M. e Calouro, F., 2000. Intake and nutritive value of mediterranean forages & diets. Edição ISA/UTL e LQARS/INIA, Lisboa, 146.
- Aksu, T., Baytok, E. e Bolat, D., 2004. Effects of bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research* 55:492-252.
- Allen, M. S., 2000. Effects of Diet on Short-Term Regulation of Feed Intake by Lactating Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 83:1598–1624.
- Alstrup, L., Wersbjerg, M.R., Hymøller, L., Larsen, M.K., Lund, P. e Nielsen, M.O., 2014. Milk production response to varying protein supply is independent of forage digestibility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97:4412-4422.
- Arriola, K.G., Kim, S.C. e Adesogan, A.T., 2011. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 94:1511-1516.
- Benchaar, C., Hassanat, F., Gervais, R., Chouinard, P. Y., Petit, H. V. e Massé, D. I., 2014. Methane production, digestion, ruminal fermentation, nitrogen balance, and milk production of cows fed corn silage or barley silage based diets. *Journal of Dairy Science*, 97:91-7122.
- Ben-Ghedalia, D., Halevi, A. e Miron, J., 1995. Digestibility by dairy cows of monosaccharide components in diets containing wheat or ryegrass silages. *Journal of Dairy Science*, 78:134-140.
- Bequette, B. J., Backwell, F.R.C. e Crompton, L. A., 1998. Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. *Journal of Dairy Science*, 81:2540–2559.
- Bernard, J.K., West, J.W. e Trammell, D.S., 2002. Effect of replacing corn silage with annual ryegrass silage on nutrient digestibility, intake, and milk yield for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85:2277-2282.
- Bernandes, T.F., De Oliveira, I.L., Lara, M.A.S., Casagrande, D.R., Ávila, C.L.S. e Pereira, O.G., 2014. Effects of potassium sorbate and sodium benzoate at two application rates on fermentation and aerobic stability. *Grass and forage Science*, 70, 491-498.
- Bessa, R. J. B., A metabolização dos ácidos gordos polinsaturados no rúmen, Parte I - Biohidrogenação Ruminal. *Lipidanimal*, sem data. (<http://lipidanimal.fmv.utl.pt/index.php/pt/dossiers/150-biohidrogenacao> visualizado em 2016, visualizado em 2016).
- Borreani, G. e Tabacco, E., 2010. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science*, 93:2620–2629.
- Bremner, J.M. e Kenney, D.R., 1965. Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytica Chimica Acta*, 32:485.
- Broderick, G.A., 2003. Effects of Varying Dietary Protein and Energy Levels on the Production of Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 86:1370–1381.
- Butler, W. .R., 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 60-61:449-457.
- Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Cabrita, Dewhurst, R.J., Sampaio, C.J.P., Miranda, M.F.S., Sousa, G.N.S., Miranda, I.M.F., e Gomes, E., 2003. Nitrogen supplementation of corn

- silages. 1. Effects on feed intake and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:4008-4018.
- Carro, M.D. Ranilla, M.J. e Tejado, M.L., 2005. Using an in vitro gas production technique to examine feed additives: Effects of correcting values for different blanks. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124: 173-184.
- Carvalho, I.Q., 2013. Tecnologia da produção de silagem de milho em sistemas de produção de leite. Tese de Mestrado Universidade de Maringá, Centro de ciências agrárias, Maringá. 82 pp
- Cooke, K.M., Bernard, J.K. e West, J.W., 2008. Performance of dairy cows fed annual ryegrass silage and corn silage with steam-flaked or ground corn. *Journal of Dairy Science*, 91:2417-2422.
- Dawson, L.E.R., Ferris, C.P., Steen, R.W.J., Gordon, F.J. e Kilpatrick, D.J., 1999. The effects of wilting grass before ensiling on silage intake. *Grass and forage Science*, 54:237-247.
- De Boever, J.L., Aerts, J.M., Vanacker, J.M., De Brabander, D. L., 2005. Evaluation of nutritive value of maize silages using a gas production technique. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124: 255-265.
- Der Bedrosian, M.C., Nestor Jr, K.E. e Kung Jr, L., 2012. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 95:5115-5126.
- Dhiman, T. R. e Satter L. D., 1997. Yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. *Journal of Dairy Science*, 80:2069–2082.
- Dhiman, T. R., Bal, M. A., Wu, Z., Moreira, V. R., Shaver, R. D., Satter, L. D., Shinnors, K. J. e Walgenbach, R. P., 2000. Influence of mechanical process on utilization of corn by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83:2521-2528.
- Diário da Republica, Serie I. nº27, 1990.
- Dijkstra, J., Kebreab, E., Bannink, A., France, J. e López, S., 2005. Application of the gas production technique to feed evaluation systems for ruminants. *Animal Feed Science and technology*, 123-124: 561-578.
- Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H. e Van Wikselaar, P. G., 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science*, 56:330-343.
- Edmunds, B., Spiekens, H., Sudekum, K. H., Nussbaum, H., Schwarz§, F. J e Bennett, R., 2012. Effect of extent and rate of wilting on nitrogen components of grass silage. *Grass and forage Science*, 59:140-152.
- Ferrarato, L. F. e Shaver, R. D., 2015. Effects of whole-plant corn silage hybrid type on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactation performance by dairy cows through a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 98:2662-2675.
- FEDNA, 2004. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Visualizado em 2016.
- Filya, I, 2004. Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four stages of maturity. *Animal Feed Science e Technology* 116:141–150.
- Filya, I. e Sucu, E., 2010. The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and forage Science*, 65: 446-455.
- Fonseca, A.J.M., Cabrita, A.R.J., Nogueira, C.S.S., Melo, D.S.P., Lopes, Z.M.C. e Abreu, J.M.F., 2005. Lactation responses of dairy cows to whole-crop wheat or ryegrass silages. *Animal Feed Science and Technology*, 118:153-160.

- FAO, 2012. Food and Agriculture Organization, visualizado em 2016.
- Frame, J., 1992. Improved Grassland Management. Farming Press Books, Ipswich, Reino Unido, 351 pp.
- France, J., Lopez, S., Kebreab, E., Bannink, A., Dhanoa, M.S. e Dijkstra, J., 2005. A general comportamental model for interpreting gas production profiles. *Animal feed science and technology*, 123-124.
- Grummer, Ric R, 1991. Effect of feed on composition of milk fat. *Journal of Dairy Science*, 74:3244-3257.
- Guo, X.S, Undersander, D.J. e Combs, D.K., 2013. Effect of *Lactobacillus* inoculants and forage dry matter on the fermentation and aerobic stability of ensiled mixed-crop tall fescue and meadow fescue. *Journal of Dairy Science*, 96:1735 – 1744.
- Haerr, K. J., Lopes, N. M., Pereira, M. N., Fellows, G. M. e Cardoso, F. C., 2015. Corn silage from corn treated with foliar fungicide and performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 98:8962-8972.
- Hoffman, P. C., Combs, D. K. e Casler, M. D., 1998. Performance of Lactating Dairy Cows Fed Alfalfa Silage or Perennial Ryegrass Silage. *Journal of Dairy Science*, 81:162–168.
- Holzer, M., Mayrhuber, E., Herbert, D. e Braun, R., 2003. The role of *Lactobacillus buchneri* on forage preservation. *TRENDS in Biotechnology* 21:282-287.
- Hopkins, Alan, 2000. Grass its Production & utilization, third edition. Edição Blackwell Science, Paris, 140 pp
- Hu, W., Schmidt, R.J., McDonell, E.E., Klingermen, C.M. e Kung Jr, L., 2009. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MDT-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal of Dairy Science*, 92:3907-3914.
- Hurley, W. L., 2009. Milk composition and Synthesis, Resource Library. University of Illinois, Urbana-Champaign.  
(<http://ansci.illinois.edu/static/ansc438/Milkcompsynth/milksynthlactosesynth.html> visualizado em 2016)
- INE, 2016. Instituto Nacional de Estatística, visualizado em 2016.
- INRA, 2007. Alimentation des bovines, ovins, caprins: besoins des animaux – valeurs des aliments. Tables INRA 2007. Editions Quae, Paris, França 307 pp.
- Ipharraguerre, I. R. e Clarck, J. H., 2005. Varying protein and starch in the diet of dairy cows. II. Effects on performance and nitrogen utilization for milk production. *Journal of Dairy Science*, 88:2556–2570
- Jarrige, R., 1998. Alimentação de bovinos, ovinos e caprinos. Coleção Euroagro, 28, 460 pp
- Johnson, L., Harrison, J.H., Hunt, C., Shinnors, K., Doggett, C.G. e Sapienzas, D., 1999. Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: A contemporary review. *Journal of Dairy Science*, 82:2813-2825.
- Johnson, L.M., Harrison, J.H., Davidson, D., Mahanna, W. C. e Shinnors, K., 2003. Corn silage management: effects of hybrid, chop length, and mechanical processing on digestion and energy content. *Journal of Dairy Science*, 86:208-231.
- Kalaç, 2011. The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. *Food Chemistry*, 125:307-317.
- Kalscheur, K. F., Vandersall. J. H., Erdman. R. A., Konh. R. A. e Russek-Cohen. E., 1999. Effects of dietary crude protein concentration and degradability on milk production

- responses of early, mid and late lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82:545-54.
- Kleinschmit, D.H. e Kung Jr, L., 2006. A meta-Analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and smallgrain Silages. *Journal of Dairy Science*, 89:4005-4013.
- Kmicikewycz, A.D., Harvatine, K.J. e Henrichs, A.J., 2015. Effects of corn silage particle size, supplement al hay and forage-to-concentrate ratio on rumen pH, feed preference and milk fat profile of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 98:4850-4868
- Krishnamoorthy, U, Rymer, C. e Robinson, P. H., 2005. The in vitro gas production technique: Limitations and opportunities. *Editorial / Animal Feed Science and Technology*, 123-124, 1-7.
- Kristensen, N.B., Sloth, K.H., Højberg, O., Spliid, N.H., Jensen, C. e Thøgersen, R., 2010. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *Journal of Dairy Science*, 93:3764-3774.
- Kung, L. Jr., Taylor, C. C., Lynch, M. P. e Neylon, J. M., 2003. The Effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:336–343.
- Lin, Y., Xiaoxu, S., Xiaoming, H., Bo Qu, Xuejun, G. e Qingzhang Li, 2016. Effects of glucose on lactose synthesis in mammary epithelial cells from dairy cow. *BMC Veterinary Research*.
- Liu, Q.H., Shao, T. e Zhang, J.G., 2013. Determination of aerobic deterioration of corn stalk silage caused by aerobic bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 183:124-131.
- Lopéz, S., Dhanoa, M.S., Dijkstra, J., Bannik, A., Kebreab, E. e France, J., 2007. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. *Animal feed science and technology*, 135:139-156.
- Louro, P., 2009. Lacticínios, Sebenta 1. Instituto Superior de agronomia, Lisboa.
- Lynch, J.P., O’Kiely, P. e Doyle, E.M., 2012. Yield, quality and ensilage characteristics of whole.crop maize and of the cob and stover components: harvest date and hybrid effects. *Grass and forage Science*, 67:472-487.
- Martinez, V. C. e Saldaña, J.L.S., 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de ruminantes. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 260 pp.
- Masahito, O., e Allen, M., sem data. The impact of improving NDF digestibility of corn silage on dairy cow performance. 107 pp
- McDonalds, P., Edwards, R.A., Greenhalgh., Morgan, C.A., Sinclair, L.A. e Wilkinson,R.G., 2011. *Animal Nutrition*, seventh edition, 692 pp
- McEniry, J., O’Kiely, P., Clipson, N. J. W., Forristal, P. D. e Doyle, E. M., 2007. The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass and forage Science*, 62:470-484.
- McEniry, J., King, C. e O’Kiely, P., 2013. Silage fermentation characteristics of three common grassland species in response to advancing stage of maturity and additive application. *Grass and forage Science* 69:393-404.
- Menke, K.H. e Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. Vol. 28

- Merry, R.Y., Jones, R. e Theodorou, M.K., 2002. The conservation of grass. In *Grass Production & utilization*, third edition, Alan Hopkins British Grassland Society Blackwell Science, 196-228 pp
- Miranda, P., 2014. Análise das concentrações de ureia no leite das vacas Frísias Holstein Ilha de São Miguel (Açores): Estudo da sua relação com o arrançoamento e dos seus efeitos nos índices reprodutivos. Tese de mestrado da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 68 pp
- Moreira, 2002. *Agronomia das forragens e pastagens*. Vila Real; UTAD, 183 pp.
- Müller, C.E. 2009. Influence of harvest date of primary growth on microbial of grass herbage and haylage, and on fermentation and aerobic stability of haylage conserved in laboratory silos. *Grass and Forage Science*, 64:328-338.
- NRC, 2001. National research council, visualizado em 2016.
- Palmquist, D.L. e Denise Beaulieu, A., 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Dairy Science*, 76:1753-1771.
- Pedroso, A. F., Adesogan, A.T., Queiroz, O. C. M. e Williams, S. K., 2010. Control of *Escherichia coli* O157:H7 in corn silage with or without various inoculants: Efficacy and mode of action. *Journal of Dairy Science*, 93:1098 – 1104.
- Penn State, Pennsylvania State University, 2004. From harvest to feed: Understanding silage management. State College: Pennsylvania State University, 33.
- Queiroz, O.C.M., Adesogan, A.T., Arriola, K.G. e Queiroz, M.F.S., 2012. Effects of a dual-purpose inoculant on the quality and nutrient losses from corn silage produced in farm-scale silos. *Journal of Dairy Science*, 95:3354-3362.
- Queiroz, O.C.M., Arriola, K.G., Daniel, J.L.P. e Adesogan, A.T., 2013. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 96:5836-5843.
- Rezaei, J., Rouzbehan, Y., Zahedifah, M. e Fazaeli, H., 2015. Effects of dietary substitution of maize silage by amaranth silage on feed intake, digestibility, microbial nitrogen, blood parameters, milk production and nitrogen retention in lactation Holstein cows. *Animal Feed Science and Technology*, 202:32-41.
- Rymer, C., Huntington, J.A., Williams, B.A. e Givens, D.I., 2005. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 123-123:9-30.
- Roche, J. e Dalley, D., 1996. Nutrition and milk. Agriculture Victoria. (<http://agriculture.vic.gov.au/agriculture/dairy/dairy-cattle-health-and-welfare/nutrition-and-milk>: visualizado em 2017).
- Santos, V. M., Almeida, S., Azevedo, S. e Duarte, V., 2008. Manual de boas práticas de ensilagem. Contributo para a melhoria da qualidade das silagens nos Açores. Secretaria Regional da Agricultura e Florestas e Direção Regional de Desenvolvimento Agrário, 39 pp
- Seglar, B., 2003. Fermentation analysis and silage quality testing. College of veterinary medicine, University of Minnesota, pp 119-135.
- Seppälä, A., Heikkilä, T., Mäki, M. e Rinne, M., 2015. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and forage Science*, 71:458-471.
- Tabacco, E., Piano, S., Cavallarin, L., Bernardes, T.F. e Borreani, G., 2009. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by

- Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculantes. *Journal of Applied Microbiology*, 107:1362-1641.
- Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A. e Borreani, G., 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Dairy Science*, 94:1409–1419.
- Teller, R. S., Schmidt, R. J., Whitlow, L.W. e Kung Jr, L., 2012. Effect of physical damage to ears of corn before harvest and treatment with various additives on the concentration of mycotoxins, silage fermentation, and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 95:1428–1436.
- Tilley, J. M. A & Terry, R. A. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*, 18:104-11.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. e Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal dairy science*, 74, 3583-3591
- Wilkinson, J.M. e Davies, D.R., 2012. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. *Grass and forage Science*, 68:1-19.
- Xiao, C. T. e Cant, J. P., 2005. Relationship between glucose transport and metabolism in isolated bovine mammary epithelial cells. *Journal of Dairy Science* 88:2794-2805.