

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ - CAMPUS UMUARAMA**  
**PROGRAMA DE MESTRADO EM PRODUÇÃO**  
**SUSTENTÁVEL E SAÚDE ANIMAL**

**RAFAEL MEIER DE MATTOS**

**DESEMPENHO DE VACAS EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS COM SILAGEM**  
**DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO COM ADIÇÃO DE PROTEASE**

**UMUARAMA/PR**

**Março**

**RAFAEL MEIER DE MATTOS**

**DESEMPENHO DE VACAS EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS COM SILAGEM  
DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO COM ADIÇÃO DE PROTEASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

**Área de concentração:**

Produção Sustentável e Saúde Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

**UMUARAMA/PR**

**2022**

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

RAFAEL MEIER DE MATTOS

### **DESEMPENHO DE VACAS EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS COM SILAGEM DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO COM ADIÇÃO DE PROTEASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA:

---

Prof. Dr. JEFFERSON RODRIGUES GANDRA  
Universidade Estadual de Maringá - UEM (Presidente)

---

Prof. Dr. ANTONIO CAMPANHA MARTINEZ  
Universidade Estadual de Maringá - UEM (Membro)

---

Prof. Dr. EUCLIDES REUTER DE OLIVEIRA  
Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD (Membro)

Aprovação em: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2022.

Local da defesa: ambiente virtual (reunião on-line)

*Dedico este trabalho a todos os professores, amigos e colegas que me influenciaram positivamente ao longo de minha trajetória profissional. Em especial à minha esposa Thais M. Del Moura Soares e ao professor Dr. Jefferson Rodrigues Gandra.*

## AGRADECIMENTO

Agradeço a minha esposa Thais M. Del Moura Soares, pelo incentivo ao ingresso no Programa de Mestrado de Produção Sustentável e Saúde Animal – PPS, assim como por todo o suporte durante a realização dos experimentos.

A Família Bortoli, pela disponibilização de sua propriedade e animais para a realização das avaliações experimentais, assim como por todo suporte operacional.

Ao Professor Dr. Jefferson Rodrigues Gandra, meu orientador, pela confiança, pelo compartilhamento de seus conhecimentos e auxílio na viabilização da execução deste trabalho.

Ao Professor Dr. Antonio Campanha Martinez, pela paciência, pelas valiosas dicas, pelos conselhos, auxílio na obtenção de insumos, viabilização da utilização de laboratórios, equipamentos, etc.

Aos professores do Programa de Mestrado de Produção Sustentável e Saúde Animal – PPS e da Universidade Estadual de Maringá - UEM pelos ensinamentos e em especial aos Professores Dra. Julia Abati do Departamento de Ciências Agrônômicas, ao Professor Dr. André Marcos Santana do Departamento de Medicina Veterinária e Professor Dr. Euclides Reuter de Oliveira da Universidade Federal da Grande Dourados pela disponibilização de laboratórios e equipamentos.

Aos colegas do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IDR-Paraná, pela compreensão da importância deste estudo, auxílios operacionais e burocráticos para sua realização, em especial a Aline Francielle Corrêa, ao Danilo Eduardo Sebin, ao Inácio Bacarin Zavilesnki, ao Joaquim Rocha Martins, ao José Jaime de Lima, a Dra. Simony Marta Bernardo Lugão e ao Dr. Vanderlei Bett, que muitas vezes me auxiliaram e me incentivaram a trabalhar com a Bovinocultura de Leite.

Aos amigos de longa data e incansáveis histórias, Heriksen Higashi Puerari e Tereza Cristina Sasaki.

Ao Programa de Mestrado de Produção Sustentável e Saúde Animal – PPS e a Universidade Estadual de Maringá – UEM, pela oportunidade de cursar esta especialização *Stricto Sensu*.

E a todos que de alguma maneira contribuíram em meu caminho.

## RESUMO

A silagem de grão de milho reidratado é uma alternativa que visa a redução do custo para a produção de leite. Objetivou-se por meio deste estudo avaliar o desempenho de vacas em lactação alimentadas com 3 tratamentos sendo: 1 - CON (dieta controle); 2 - SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado); 3 - SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>). Foram avaliadas 24 vacas mestiças suplementadas a pasto. Coletaram-se amostras de leite, sangue, urina e fezes, e a condição de escore corporal aferiu-se nos dias 0, 14, 28, 42 e 56 do período experimental. Foram determinados composição e perfil de ácidos graxos do leite, perfil bioquímico do sangue, síntese de proteínas microbianas e amido fecal. Observou-se a redução dos teores de amido fecal e o conseqüente aumento da produção de leite dos animais alimentados com a silagem de grão de milho reidratado com a adição de protease frente a utilização da silagem de grão de milho reidratado sem a adição de protease e frente a utilização de grão de milho seco, concluindo-se que a adição de protease, assim como o processo de ensilagem do milho reidratado pode melhorar o desempenho de vacas em lactação.

**Palavras-chave:** Enzimas exógenas, grão úmido, leite, nutrição, ruminantes.

## ABSTRACT

Rehydrated corn grain silage is an alternative that aims to reduce the cost of milk production. The objective of this study was to evaluate the performance of lactating cows fed with 3 treatments: 1 - CON (control diet); 2 - SGU (diet with total replacement of ground corn by rehydrated corn grain silage); 3 - SGUP (diet with total replacement of ground corn by rehydrated corn grain silage + 500 g ton<sup>-1</sup> of CINBENZA DP100® enzymatic extract of *Bacillus licheniformis*, protease activity 600 IU g<sup>-1</sup>). Twenty-four crossbred cows supplemented with pasture were evaluated. Milk, blood, urine and feces samples were collected, and the body score condition was measured on days 0, 14, 28, 42 and 56 of the experimental period. Milk fatty acid composition and profile, blood biochemical profile, microbial protein synthesis and fecal starch were determined. There was a reduction in fecal starch levels and a consequent increase in milk production of animals fed with rehydrated corn grain silage with the addition of protease against the use of rehydrated corn grain silage without the addition of protease and against the use of dry corn grain, concluding that the addition of protease, as well as the silage process of rehydrated corn can improve the performance of lactating cows.

**Keywords:** Exogenous enzymes, wet grain, milk, nutrition, ruminant.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Consumo de matéria seca ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.....	39
Figura 2. Amido Fecal ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.....	41
Figura 3. Produção de leite ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais. ....	43



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estruturas físicas de grãos dos híbridos de milho KWS 9960 (Grão “ <i>Flint</i> ”) e KWS 9606 (Grão “ <i>Dent</i> ”).	21
Tabela 1. Composição das dietas e dados bromatológicos dos alimentos.	31
Tabela 2. Distribuição do tamanho de partícula da forragem.	32
Tabela 3. Consumo, eficiência de consumo e avaliação de fezes de vacas alimentadas de acordo com as dietas experimentais.	38
Tabela 4. Desempenho produtivo, qualidade do leite e condição corporal das vacas de acordo com as dietas experimentais.	42
Tabela 5. Perfil de ácido graxos do leite produzido pelas vacas de acordo com as dietas experimentais.	44
Tabela 6. Perfil bioquímico do sangue de vacas em lactação tratadas de acordo com as dietas experimentais.	46
Tabela 7. Síntese de proteína microbiana de vacas em lactação tratadas de acordo com as dietas experimentais.	46

## SUMÁRIO

EPIGRAFE .....	10
AGRADECIMENTO.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	14
2.1 Silagem de Grão Úmido .....	14
2.2 Silagem de Grão Úmido de Milho.....	16
2.3 Silagem de Grão de Milho Reidratado.....	18
2.4 Anatomia do Grão de Milho .....	18
2.5 Digestibilidade do Amido do Grão de Milho.....	21
2.6 Protease .....	24
2.7 Utilização de Protease no Processamento de Grãos .....	24
2.8 Desempenho de Vacas em Lactação Alimentadas com Silagem de Grão de Milho Reidratado.....	25
2.9 Perfil de Ácidos Graxos do Leite .....	27
3 HIPÓTESE:.....	30
4 OBJETIVO GERAL: .....	30
5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	30
6 MATERIAL E MÉTODOS: .....	30
7 RESULTADOS:.....	37
8 DISCUSSÃO:.....	47
9 CONCLUSÃO: .....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
TOPICO II – ARTIGO A SER SUBMETIDO.....	68
ANEXO I.....	33

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea Mays*) é originário da atual região do México e consumido pelos povos americanos desde 5000 a.C. (ABIMILHO, 2019). Atualmente é um dos cereais mais cultivados no mundo, pois suas sementes possuem alto valor nutricional e econômico, visto suas várias formas de utilização, que vão desde a alimentação animal e humana à produção de polímeros (PAES, 2006). Sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial de milho (CONAB, 2021). Apesar do conhecido uso culinário, quem mais demanda milho é a indústria de ração animal, que foi responsável por 46%, seguida pela indústria de etanol 37%, contra apenas 8% da demanda para o consumo humano do total de 2021 (ABIMILHO, 2021). O grão de milho é reconhecido pelo seu alto teor de carboidratos (CHO), contendo também proteínas, óleos e vitaminas, mas prevalecendo em maior concentração o amido, em razão disso é muito utilizado para a alimentação animal como fonte de energia (OWENS et al., 1997).

A produção mundial de milho para a safra 2018/2019, foi de 1,068 bilhão de toneladas, o que equivale a cerca de 3,4% maior em relação à safra anterior, enquanto o consumo para o período da safra de 2018/2019 foi de 1,107 bilhão (USDA, 2018). O consumo de milho mundialmente tem sido maior que a produção (1,10 bilhão de toneladas x 1,07 bilhão, respectivamente), reduzindo os estoques de 198,2 milhões, em 2017/2018, para 159,3 milhões, na safra 2018/2019, a menor relação estoque/consumo desde 2012/2013, o que indica que, apesar da produção estar se elevando, o consumo tem aumentado em maior proporção, muito pelo aumento da demanda por proteína animal, sobretudo em países emergentes, como China e Índia (CONAB, 2021). O que leva a necessidade de cada vez mais buscar o uso eficiente do milho, visando a redução do custo de produção animal.

Em função do melhoramento genético da planta de milho, a maioria das cultivares de milho utilizadas no Brasil, são variedades híbridas, que possuem a predominância do endosperma do tipo vítreo, sendo classificado como grãos do tipo “*Flint*” duro (PEREIRA et al., 2004). Visando melhorar a digestibilidade do milho nas diversas partes do trato digestório, algumas técnicas têm sido adotadas (LOPES et al., 2009). Sendo exemplo de processamento, a ensilagem de grãos com alto teor de umidade, que eleva a digestibilidade do amido, pelos meios da proteólise ao longo do tempo de armazenamento (HOFFMAN et al., 2011).

Embora o fornecimento de enzimas exógenas diretamente aos animais não melhore consistentemente o desempenho destes, evidências sugerem que a adição destas enzimas durante o processo de ensilagem da silagem de milho pode melhorar a digestibilidade da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) em ruminantes (LARA et al., 2018).

Visando o aumento do aproveitamento dos alimentos pelos animais, nota-se um aumento de estudos utilizando enzimas na nutrição animal. As enzimas são compostos catalizadores, elaborados por microrganismos exclusivos, para a metabolização dos nutrientes que estão presentes no meio de cultivo (LEE et al., 1999). De acordo com a origem das enzimas, que podem ser obtidas através de fungos, bactérias ou leveduras, as condições necessárias para poder intensificar a sua atividade serão diferentes, podendo algumas condições do meio interferir, tais como: umidade, pH, temperatura, quantidade de enzimas e substratos (AEHLE et al., 2004).

O *Bacillus licheniformis* é uma bactéria que dentre as suas diversas aplicações possui atividade potente como protease e é, portanto, amplamente utilizado em aplicações no processamento de alimentos e rações (AWASTI; ANAND; DJIRA, 2019).

Assim este estudo foi realizado sobre a hipótese da melhora do potencial digestivo da silagem do grão de milho reidrato com adição de aditivos enzimáticos proteolíticos obtidos a partir do *Bacillus licheniformis*, considerando que a quebra da matriz proteica formada pela prolaminas (Zeína) aumentaria a disponibilidade e digestibilidade do amido presente na dieta, tendo como finalidade melhorar o desempenho produtivo dos animais e rentabilidade da bovinocultura leiteira.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Silagem de Grão Úmido

A silagem de grão úmido é uma forma alternativa de armazenamento de grãos, que pode ser realizada diretamente nas propriedades rurais, através de atmosfera modificada, com a ausência de oxigênio. Este ambiente proporciona a minimização do desenvolvimento de fungos, bactérias patogênicas, entre outros organismos indesejados no processo de armazenamento de grãos. Assim como o ambiente hipóxico favorece o desenvolvimento de bactérias homofermentativas, responsáveis pela produção de ácido láctico e consequente redução de pH do material ensilado, favorecendo o processo de conservação do alimento (PEREIRA et al., 2017).

Na ensilagem a preservação do material ensilado é causada pela combinação da exclusão de oxigênio, pela produção de ácido láctico e outros produtos, por bactérias através da fermentação natural dos açúcares, diminuindo o pH (SILVA et al., 2015). A eliminação do oxigênio reduz o desenvolvimento dos microrganismos indesejáveis, e o baixo pH é o regula do crescimento de microrganismos anaeróbios (MUCK, 2011).

O grão de Milho quando ensilado possui um bom perfil fermentativo, no entanto com a abertura do silo, a silagem ficará propensa a deterioração aeróbia, pela atuação de microrganismos indesejáveis, como leveduras e fungos (REIS et al., 2018). A deterioração aeróbica de silagens de grãos de milho pode acarretar a redução de energia e conseqüentemente redução do valor nutricional (NAIR et al., 2020).

Para a geração e manutenção do ambiente com a ausência de oxigênio, devem ser tomados alguns cuidados quanto ao enchimento, compactação, vedação e posterior descarregamento dos silos, da mesma maneira que nos processos de ensilagem de plantas inteiras (JOBIM; BRANCO; SANTOS, 2003).

Os cuidados que devem ser adotados na produção de silagem são: a) rapidez na colheita, transporte e moagem dos grãos; b) adequada compactação do silo; c) curto período entre início da ensilagem e a vedação do silo; d) correto dimensionamento do silo afim de garantir a retirada de pelo menos 10 cm de material ensilado por dia (KIYOTA et al., 2011).

O processo de ensilagem pode ser dividido em quatro fases: aeróbia, fermentação, fase estável e deterioração aeróbia. A primeira inicia-se na moagem do material e enchimento do silo com processos de respiração e proteólise, que são atividades enzimáticas importantes para a conservação da matéria-prima. Com a respiração ocorre a transformação dos açúcares (carboidratos solúveis) da planta em água e gás carbônico, liberando calor. Na proteólise ocorre a degradação das proteínas, realizada pelas proteases da própria planta, resultando em produção de peptídeos e aminas. Com destes processos, ocorre a redução do oxigênio dentro do silo que desencadeia a segunda fase, a fase fermentativa, onde ocorre o desenvolvimento de microrganismos anaeróbicos, como as bactérias ácido-láticas, que preservam o material ensilado pela conseqüente redução do pH, e pela produção do ácido láctico. Essa bactérias transformam açúcares em ácido láctico, acético, etanol, gás carbônico e outros produtos secundários, pelo processo fermentativo, num período que varia de 7 a 21 dias, o que é desejável no processo de silagem. A terceira fase é chamada de fase estável e só ocorrerá se o silo estiver devidamente bem vedado sob ausência total de oxigênio e com valor de pH abaixo de 3,8, onde a estabilização do material ensilado se dá através da baixa atividade biológica no silo. A última fase a deterioração aeróbia, é aquela que ocorre entre 14 e 21 dias depois do material ser ensilado, em casos onde o material é exposto ao oxigênio, como a abertura do silo, podendo provocar perdas nutricionais pela ação de microrganismos aeróbios que passam a consumir os açúcares, produtos de fermentação (ácidos lácticos e acéticos) e outros nutrientes solúveis na silagem, assim, a silagem deverá ser oferecida diariamente e rapidamente consumida pelos animais, após a exposição ao oxigênio (BURNS, 1982).

As silagens de grãos úmidos apresentam inúmeras vantagens, tais como a maximização do uso das áreas por meio da colheita antecipada, redução de perdas no campo pelo tombamento de plantas e ataque de pássaros, pragas e doenças, além da economia com a eliminação de etapas necessárias para o armazenamento do grão seco, como pré-limpeza e secagem (JOBIM; BRANCO; SANTOS, 2003), além de possuir baixo custo de estocagem (BIAGGIONI et al., 2009).

A utilização das silagens de grão úmido gradualmente tem se expandido pois além de facilitar o armazenamento de grãos, estudos demonstram que o processo fermentativo da ensilagem aumenta a digestibilidade da matéria seca,

principalmente em função do aumento da digestão do amido, que é o principal componente de alguns tipos de grãos como milho e sorgo (JOBIM; REIS; RODRIGUES, 1997). Outros autores relatam também o aumento da eficiência da conversão alimentar (BERNDT et al., 2002; REIS et al., 2001). O fornecimento de grãos com alta umidade em dietas, apresentam maior taxa e rapidez de digestão, tanto *in vitro* como *in vivo*, quando comparados com grãos secos (HIBBERD et al., 1985a; STREETER et al., 1989).

## **2.2 Silagem de Grão Úmido de Milho**

O milho apresenta grande importância dentre os produtos da agricultura familiar brasileira, sendo utilizado tanto na alimentação humana como animal. No entanto grande parte dos agricultores tem dificuldades no armazenamento deste grão. O armazenamento inadequado predispõe os grãos ao ataque de pragas e fungos capazes de produzir micotoxinas. O ataque de insetos e roedores podem ocasionar perdas de peso de cerca de 15% com relatos de casos mais graves chegando a 40% (SANTOS, 2006).

Apesar de não se ter relatos do início da utilização do armazenamento de grãos através do processo de ensilagem de grãos, sabe-se que os primeiros estudos voltados a produção de silagem de grão úmido de milho, ocorreram no final da década de 50, nos Estados Unidos e só a partir da década de 70 que a técnica passou a ser amplamente utilizada em confinamentos de bovinos de corte. A partir de 1981 produtores da região de Castro no Estado do Paraná iniciam a utilizar da técnica para a alimentação de suínos e posteriormente na alimentação de bovinos de leite e corte (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2004).

A utilização da silagem de grão úmido de milho tem se expandido consideravelmente nos últimos anos, por ser considerada uma tecnologia de fácil adoção e custo reduzido para produtores, principalmente aos que possuem áreas onde as condições climáticas podem comprometer a colheita (FERRARETTO; SHAVER; LUCK, 2018). A colheita dos grãos é realizada logo após a maturação fisiológica, quando encerrando assim a translocação de nutrientes da planta para os grãos, que ocorre quando o teor de umidade do grão se encontra em torno de 28 a 35%, tendo como vantagem a antecipação da retirada da cultura, que

normalmente seria colhida com umidade abaixo de 14%, reduzindo perdas e custos de produção (JOBIM; BRANCO; SANTOS, 2003).

A silagem de grão úmido de milho apresenta uma taxa de digestão do amido *in vitro* 76% mais rápida do que o milho seco moído ( $9,7 \times 5,5\% \text{ h}^{-1}$ ) (LADELY et al., 1995), sendo que 90% do amido do milho úmido foi digerido no rúmen, comparado ao milho seco (STOCK et al., 1987a, 1991). A digestibilidade aparente da matéria seca, amido e fibra em detergente ácido foi maior para o milho de alta umidade em relação ao milho seco (STOCK et al., 1987b, 1987a), sugerindo que o amido presente no milho úmido deve ser mais rapidamente e extensivamente digerido no rúmen (GALYEAN; LEE; HUBBERT, 1981; STOCK et al., 1987a, 1987b). Assim como o maior teor de umidade do grão de milho diminui a ingestão de matéria seca, porém não reduz o ganho de peso, melhorando a eficiência alimentar (LADELY et al., 1995) e o conteúdo de energia metabolizável do grão (OWENS et al., 1997).

Estudo, avaliando a taxa de desaparecimento do amido *in situ* dentro de diferentes processamentos e tamanhos de partícula, mostrou que o desaparecimento do amido, dentro de cada tamanho de partícula, foi maior para grão úmido de milho ensilado do que para o milho seco moído (GALYEAN; LEE; HUBBERT, 1981).

Alguns autores indicam que o uso de inoculantes em silagens de grãos úmidos de milho não influencia o padrão de fermentação, mas pode reduzir o teor de nitrogênio amoniacal e as perdas de matéria seca, aumentando a importância da análise econômica na definição da utilização ou não de inoculantes (ÍTAVO et al., 2006). Outros dizem que uso de aditivos microbianos pode alterar a dinâmica de fermentação, acelerando o processo fermentativo e aumentando a produção do ácido lático que é desejado (FERRARETTO; FREDIN; SHAVER, 2015). Por apresentarem grande quantidade de ácido lático e carboidratos solúveis, as silagens de grão úmido de milho são mais susceptíveis a deterioração, pela ação de microrganismos aeróbios e anaeróbios, no silo assim como após a abertura deste (REIS et al., 2018). Alguns inoculantes mais comumente usados em silagens de milho, convertem o ácido lático em ácido acético, melhorando assim a estabilidade aeróbica e a conservação das silagens (FERRERO et al., 2019).



### **2.3 Silagem de Grão de Milho Reidratado**

A silagem de grão de milho reidratado, consiste na mesma técnica da silagem de grão úmido de milho, o método resulta em adicionar água ao grão seco até se alcançar uma umidade ideal de 28 a 40% para a fermentação das silagens (BENINI et al., 2020). Possibilitando a utilização de grãos colhidos em umidades mais baixas do que a adequada ao processo da ensilagem. A técnica de ensilagem de grão de milho reidratado reduz as perdas de armazenamento, aumenta a digestibilidade em comparação com moagem a seco ou fornecimento do grão inteiro seco, reduz os gastos com transporte e minimiza os efeitos do mercado frente as flutuações de preços (ARCARI et al., 2016b). A silagem de grão de milho reidratado, permite ao produtor a compra estratégica do milho, em momentos de menor valor nos preços, permite também contornar o problema da estreita janela de colheita dos grãos com o teor ideal de umidade (MORAIS et al., 2012).

A ensilagem de grãos de reidratados é uma importante ferramenta para o aumento da digestibilidade dos nutrientes presentes no milho, porém é necessário o compreender algumas peculiaridades do processo fermentativo (MENEZES et al., 2017). Os grãos de milho, apesar de alcançarem a maturidade fisiológica com diferentes teores de umidade conforme o tipo de grão, em torno de 34% no milho dentado e 37% no milho duro, não sofrem mais alteração na sua concentração de amido (PHILIPPEAU; LANDRY; MICHALET-DOREAU, 2000). Isso mostra que silagens de grãos de milho colhidos com alta umidade e de grãos de milho reidratados, provavelmente possuirão concentrações de amido semelhantes (ARCARI et al., 2016a).

### **2.4 Anatomia do Grão de Milho**

O milho tem seu fruto classificado botanicamente como um cariopse, caracterizado como fruto monospermo, seco e indeiscente, com o pericarpo delgado e soldado ao tegumento do grão em toda sua extensão, normalmente apresenta coloração amarela ou branca, mas pode variar desde o preto ao vermelho, a coloração é decorrente da presença de vários pigmentos, entre eles carotenoides e compostos fenólicos (LAO; SIGURDSON; GIUSTI, 2017). O peso do grão varia de 250 a 300 mg em média, e a composição média é de 72% amido, 9,5% proteínas, 9% fibra e 4% óleo (PAES, 2006).

O grão de milho é composto por principalmente quatro estruturas físicas: endosperma, gérmen, pericarpo e pedúnculo, as quais possuem diferente composição química e distribuição no grão.

O endosperma é o principal constituinte do grão de milho representando cerca de 83% do peso total do grão seco, é consistindo principalmente de amido (88%), que é organizado na forma de grânulos (MITTELMANN, 2001). No endosperma também estão presentes as proteínas de reserva (8%), que formam os corpos proteicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma, são proteínas do tipo prolaminas, chamadas zeínas (PAES, 2006). A Zeína é a principal proteína presente no endosperma do milho e é uma classificação do grupo das prolaminas, caracterizadas pelo alto teor de aminoácidos apolares, conferindo estrutura molecular hidrofóbica, solúveis em álcool para sua extração (SHUKLA; CHERYAN, 2001). De acordo com a distribuição dos grânulos de amido e presença ou não da matriz de proteína, o endosperma é classificado em dois tipos: farináceo e vítreo (DELCOUR; HOSENEY, 2010). No endosperma farináceo, os grânulos de amido são arredondados e estão dispersos, e não há a presença de matriz proteica circundando estes grânulos, o que resulta em espaços vagos durante o processo de secagem do grão, a partir dos espaços onde antes era ocupado pela água, durante o desenvolvimento do grão, resultando em um endosperma menos denso (HUNTINGTON, 1997). Ao contrário, no endosperma vítreo, a matriz proteica é densa, com uma matriz proteica estruturada, que circundam os grânulos de amido em formato poligonal, não permitindo espaços entre estas estruturas (CHOCT et al., 2001). A denominação do endosperma como vítreo ou farináceo refere-se ao aspecto nos grãos quando sujeitos à luz. No endosperma farináceo, por sua menor densidade permite a passagem da luz, conferindo opacidade ao material. De forma contrária, a maior densidade pela ausência de espaços entre os grânulos de amido e a matriz proteica promove a reflexão da luz, resultando em aspecto vítreo ao endosperma (PAES, 2006). Também no endosperma, especificamente, na camada de aleurona e principalmente no endosperma vítreo, estão presentes os carotenoides, substâncias lipídicas que conferem a cor aos grãos de milho. Zeaxantina, luteína, betacriptoxantina, alfa e beta carotenos são os principais carotenoides nos grãos de milho (JANICK-BUCKNER, 1999). As proteínas de

reserva que são encontradas em maior abundância no grão de milho, são abundantes em aminoácidos metionina e cisteína, mas são deficientes em lisina e triptofano, os quais são essenciais à nutrição humana e de alguns monogástricos (SGARBIERI, 1996). Por esse motivo, a qualidade da proteína, em milhos não melhorados para tal fim, é baixa, correspondente a 65% daquela presente no leite, considerada um padrão para a nutrição humana. No entanto, as proteínas de reserva presentes no grão de milho possuem altas quantidades dos aminoácidos glutamina, leucina, alanina e prolina, os quais conferem alta hidrofobicidade a camada proteica que envolve o amido presente no endosperma (LARKINS; LENDING; WALLACE, 1993).

O gérmen representa cerca de 11% do grão de milho e concentra 83% dos lipídeos (óleo e vitamina E) e 78% dos minerais do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%) (MITTELMANN, 2001). Essa é a fração viva do grão, e onde estão presentes as proteínas do tipo albuminas, globulinas e glutelinas, que diferem significativamente, em composição e organização molecular, daquelas encontradas no endosperma e, por conseguinte, diferindo das primeiras em qualidade nutricional (PAES, 2006).

O pericarpo compõe aproximadamente 5% do grão, sendo uma estrutura de proteção, as outras estruturas do grão, da elevada umidade do ambiente e ataque de insetos e outros microrganismos. É composto por camadas de células constituídas de polissacarídeos do tipo hemicelulose (67%) e celulose (23%) e lignina (0,1%) (GALINAT, 1971). Devido ao conteúdo lignocelulósico no pericarpo os grãos de milho são considerados importantes fontes de fibras, especialmente do tipo insolúveis (hemicelulose, celulose e lignina), que correspondem à fração fibra em detergente neutra nas avaliações para alimentação animal. Quando os grãos secos são processados, a exemplo da moagem, os produtos resultantes chegam a perder até 80% do conteúdo fibroso do grão, não sendo mais considerados boas fontes de fibra.

A ponta corresponde a apenas 2%, é considerada a menor estruturado grão de milho, responsável pela conexão do grão ao sabugo, sendo a única área não protegida pelo pericarpo no grão. Sua composição é essencialmente de material lignocelulósico (PAES, 2006).

Na Tabela 1 é apresentada a variação da distribuição das estruturas físicas do grão de milho, de um híbrido do tipo duro e outro dentado, assim como o percentual de endosperma vítreo e farináceo.

**Tabela 1.** Estruturas físicas de grãos dos híbridos de milho KWS 9960 (Grão “*Flint*”) e KWS 9606 (Grão “*Dent*”).

Híbrido	Grão inteiro	Ponta	Pericarpo	Gérmen	Endosperma Total	Endosperma Vítreo	Endosperma Farináceo
	(g)	(% total do grão de milho)			(% do endosperma)		
9960	0,32	1,54 <sup>a</sup>	6,11 <sup>b</sup>	8,53 <sup>a</sup>	83,09 <sup>a</sup>	68,56 <sup>a</sup>	31,44 <sup>b</sup>
9606	0,33	1,99 <sup>a</sup>	5,75 <sup>a</sup>	10,32 <sup>b</sup>	81,12 <sup>b</sup>	50,90 <sup>b</sup>	49,10 <sup>a</sup>

Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si ( $P > 0,05$ )  
Adaptado: (FREITAS, 2022).

O grão de milho em função de suas características e composição de seu endosperma pode ser do tipo mole “*Dent*” ou duro “*Flint*”, assim a partir de 2013 o MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) através da Instrução Normativa nº60 de 22/12/2011 passou a classificar o milho brasileiro como Duro, Dentado, Semiduro e Misturado (MAPA, 2011). A maioria do milho comercial produzido nacionalmente é do tipo duro, enquanto, nos países de clima temperado, a predominância é do tipo dentado.

A principal diferença entre os tipos de milho é a forma e o tamanho dos grãos, definidos pela estrutura do endosperma e o tamanho do gérmen. Milhos duros diferem dos milhos dentados na relação de endosperma vítreo/endosperma farináceo. Nos milhos dentados, o endosperma farináceo concentra-se na região central do grão, entre a ponta e o extremo superior. Nas laterais dessa faixa e no verso do grão está localizado o endosperma vítreo. Durante a secagem do grão, o encolhimento do endosperma farináceo resulta na formação de uma indentação na parte superior do grão, caracterizando o milho como dentado. O milho duro possui um volume contínuo de endosperma vítreo, que resulta em grãos lisos e mais arredondados, com uma aparência dura e vítrea (DELCOUR; HOSENEY, 2010).

## 2.5 Degradabilidade do Amido do Grão de Milho

Nas principais regiões produtoras de milho do mundo o tipo mais cultivado é o dentado. No entanto no Brasil, o cultivo é predominantemente do tipo duro (CRUZ et al., 2019). A constante preocupação pela sanidade de plantas, fez com que os

melhoristas brasileiros optassem pela desenvolvimento de materiais principalmente do tipo duro ou semiduro (DE LIMA; WALTRICK DE SOUZA, 2002).

Sendo assim é de extrema importância estudar os métodos de processamento que melhorem a disponibilidade do amido no rúmen e suas implicações no desempenho e saúde das diversas categorias animais. O processo de moagem de grãos é a forma mais simples e prática que pode ser aplicado para obtenção de diferentes tamanhos de partículas, ocorrendo variações na proporção de degradação ruminal e digestão intestinal (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991).

A degradabilidade do amido é influenciada principalmente pela matriz hidrofóbica amido-proteína que envolvem os grânulos de amido e impede a fixação microbiana da flora ruminal ou a digestão hidrolítica e enzimática no abomaso e intestino delgado (GIUBERTI et al., 2014). O ataque enzimático é dificultado, principalmente no vítreo (LOPES et al., 2009). A parte mais importante dessa matriz hidrofóbica são as prolaminas, que no grão de milho chamadas zeínas, proteínas com alta concentração de prolina. A prolina é um aminoácido hidrofóbico, responsável por desenvolver a mesma característica nas proteínas com elevado teor de prolina, dificultando o acesso das bactérias ruminais ao amido, uma vez que o rúmen é um ambiente líquido (LARSON; HOFFMAN, 2008).

Zeína é o nome dado a proteína armazenadora do milho pertencente ao grupo das prolaminas. É a principal proteína presente no endosperma do milho, caracterizada pelo alto teor de aminoácidos apolares, conferindo estrutura molecular hidrofóbica, mas solúveis em álcool para sua extração (SHUKLA; CHERYAN, 2001). A zeína está relacionada com o teor de amido no grão e sua vitreosidade, onde o comportamento complexo da vitreosidade do milho é devido às interações entre os grânulos de amido e sua matriz proteica no endosperma, e que os parâmetros que refletem essas interações devem ser considerados juntos, a fim de explicar a vitreosidade de forma mais assertiva (KLJAK; DUVNJAK; GRBEŠA, 2018). A Zeína corresponde a cerca de 60% do total de proteínas do grão de milho, a qual é classificada segundo a sua similaridade em massa molecular, solubilidade em solventes e estrutura em quatro subclasses: Alfa, Beta, Gama e Delta. Dentro dessas subclasses, a alfa ou alfazeína, geralmente presente em maior concentração, destaca-se por ser rica em aminoácidos hidrofóbicos

(alanina, leucina e prolina), a beta ou betazeína possui altos teores de aminoácidos sulfurados, a gama-zeína constitui-se de resíduos de prolina, e a delta-zeína contém em sua estrutura aminoácidos sulfurados além de prolina e leucina (LARKINS; LENDING; WALLACE, 1993; PINTO et al., 2010).

Outro fator de grande importância na degradabilidade do amido é a proporção de amilose e amilopectina, as quais são mantidas unidas por pontes de hidrogênio, na composição dos grânulos de amido resultando em estruturas altamente organizadas e com baixa capacidade de absorção de água (NOCEK; TAMMINGA, 1991). No grão de milho a amilopectina é o componente mais abundante no amido, constituindo cerca de 70 a 80% deste (HUNTINGTON, 1997). Quanto maior o teor de amilopectina, maior será a digestibilidade, visto que digestibilidade do amido é inversamente proporcional ao teor de amilose (JOBIM; BRANCO; SANTOS, 2003).

Uma forma de melhorar a degradabilidade do amido é através do processamento dos grãos do milho, o qual se refere a métodos físicos e químicos que visam potencializar a fermentação do amido no rúmen, além de reduzir as limitações da digestão do amido no intestino delgado dos ruminantes. A maior degradação do amido no rúmen melhora o suprimento de proteína microbiana e a produção de energia, na forma de ácidos graxos voláteis (AGV) (FERRARETTO; CRUMP; SHAVER, 2013).

Durante o processo de fermentação da silagem de grão úmido ocorre a fragilização da matriz proteica que recobre os grânulos de amido presentes no endosperma periférico das sementes, resultando em maior digestibilidade do amido (DEMARQUILLY et al., 1996). O que pode estar relacionado a redução da zeína, proteína que envolvem os grânulos de amido, durante o processo de fermentação da silagem (HOFFMAN et al., 2011).

Alguns estudos evidenciam que silagem de grão úmido armazenadas por períodos prolongados aumentam a degradabilidade ruminal do amido *in vitro*, ressaltando que a máxima digestibilidade do amido só pode ser alcançada após vários meses de armazenamento dos grãos (FERRARETTO et al., 2014; KUNG; WINDLE; WALKER, 2014).

As enzimas podem ser empregadas em diversas utilidades acordo com o tipo da enzima, quando se fala em enzimas que degradam proteínas, destacam-se as proteases. Essas enzimas podem hidrolisar as cadeias peptídicas das proteínas

que envolvem os grânulos de amido, conseqüentemente, torna-se mais digestível em menos tempo de armazenamento (ROSEIRA, 2019).

## 2.6 Protease

A proteína é um dos três principais grupos de alimentos necessários para uma adequada nutrição. Enzimas proteolíticas ou proteases são o grupo de enzimas cuja função catalítica é hidrolisar (degradação) proteínas (NAIDU, 2011). Atualmente, as proteases são divididas em quatro principais grupos com base no caráter de seu sítio ativo catalítico e condições de ação, sendo as proteases aspárticas, proteases de cisteína, proteases de serina e metaloproteases (RAO et al., 1998).

As cepas de *Bacillus* são os organismos mais aceitáveis para o desenvolvimento de proteases em escala comercial de forma economicamente viável (CONTESINI; MELO; SATO, 2018). O *Bacillus licheniformis* é amplamente distribuído na natureza. Esta bactéria possui muitas características fisiológicas e possui muitas funções especiais, como a produção de endósporos para resistir a vários ambientes adversos. *Bacillus licheniformis* também possui atividade potente de protease, lipase, amilase, glucanase, e quitinase e é, portanto, amplamente utilizado em aplicações médicas, de pesticidas, alimentos, processamento de rações e purificação de ambientes (AWASTI; ANAND; DJIRA, 2019).

## 2.7 Utilização de Protease no Processamento de Grãos

O uso de enzimas no processamento de grãos busca auxiliar na disponibilidade de substrato para a ação dos microrganismos. Indo mais a fundo nas funções das enzimas, pode-se destacar que são responsáveis pela degradação de amido e estão amplamente distribuídas na natureza. As enzimas têm sido usadas visando otimizar a quebra da parede celular nas plantas para melhorar o processo fermentativo das bactérias responsáveis pela produção de ácido láctico em silos, e conseqüentemente aumentar o valor nutritivo da silagem (MUCK et al., 2018).

Cada grupo enzimático possui uma ação específica, quando se fala do uso de enzimas em silagens de grão úmido, é importante evidenciar que durante a ensilagem a matriz de zeína pode ser degradada, principalmente pela ação de

enzimas proteolíticas, e essa quebra facilitará a acessibilidade dos microrganismos ruminais aos grânulos de amido, no processo de digestão (JUNGES et al., 2017).

A utilização de protease exógena no tratamento de plantas inteiras de milho recém colhidos, resulta em melhora da digestibilidade ruminal do amido *in vitro*, após um curto tempo de ensilagem em relação a silos com processo fermentativo por meio de mecanismos proteolíticos naturais (DER BEDROSIAN; KUNG, 2019). Mesmo silagens de plantas inteiras de milho colhidas com maior grau de maturidade das plantas obtiveram aumento da digestibilidade ruminal do amido *in vitro* (WINDLE; WALKER; KUNG, 2014).

A adição das proteases exógenas na confecção de silagem de grão de milho reidratado acelerou o processo proteolítico durante a fermentação, além de apresentar efeito sobre a degradação ruminal *in vitro*, com rápido aumento da degradação do amido (FERRARETTO; CRUMP; SHAVER, 2015). Assim como foi sugerido que a adição de protease exógena durante o processo de ensilagem dos grãos, aumenta a quebra das zeínas, atenuando os efeitos negativos de endosperma vítreo, o que acelera o processo de degradabilidade ruminal do amido *in vitro* de silagens de grãos úmidos (KUNG; WINDLE; WALKER, 2014).

A ensilagem de grãos de milho através da reidratação apresentaram aumento da degradabilidade ruminal do amido *in vitro* com a adição de protease exógena. Sugerindo que a silagem de grão de milho reidratado com adição de protease é uma alternativa viável a produtores de leite (FERRARETTO; FREDIN; SHAVER, 2015).

## **2.8 Desempenho de Vacas em Lactação Alimentadas com Silagem de Grão de Milho Reidratado**

Na substituição do milho seco moído por silagem de grão de milho reidratado em dietas de vacas leiteiras, verificou se aumento na produção de leite de 2,1 litros/vaca/dia e na digestibilidade aparente total do amido, uma melhora de 8 pontos percentuais (ARCARI et al., 2016b). A produção de leite, dos animais que receberam o concentrado a base de silagem de grão de milho reidratado e grãos de soja, foi maior 0,670 litros/vaca/dia, o que equivaleu a 3,2% em relação ao tratamento controle, resultado alcançado em função do maior aproveitamento dos



grãos de milho reidratados no processo de ensilagem em relação aos grãos seco (BENTON; KLOPFENSTEIN; ERICKSON, 2005).

Para vacas da raça Holandesa que receberam dieta composta por silagem de grãos de milho comparada as que receberam dieta com grãos secos moídos registraram produção maior em de 2,0 kg/dia de leite, a melhor resposta na produção de leite sugere um melhor aproveitamento do amido da dieta (WILKERSON; GLENN; MCLEOD, 1997).

Vacas alimentadas com silagem de grão úmido de milho produziram mais leite (39,8 kg/dia) em relação as vacas que receberam grão seco de milho moído (38,0 kg/dia) na dieta. Essa diferença de 4,6% na produção pode ser considerada altamente significativa em um sistema de produção leiteira. No mesmo estudo, os autores compararam o processamento dos grãos, aonde foram grosseiramente moído e finamente moído, constatando que os grãos secos ou ensilados finamente moídos obtiveram maior produção de leite (SAN EMETERIO et al., 2000).

O teor de gordura no leite produzido por vacas alimentadas com silagem de grão úmido foi menor (3,59%) quando comparado as vacas alimentadas com grãos de milho seco moído grosso (3,89%), isto devido a maior digestibilidade do amido oriundo da silagem de grão úmido. O aumento na digestibilidade do amido além elevar a produção de leite, eleva a produção de proteína microbiana no rúmen e melhorara a utilização de nitrogênio pela vaca, o que aumenta a utilização da amônia e fornece mais energia para a vaca (SAN EMETERIO et al., 2000).

Dieta de vacas em lactação de alta produção normalmente é composta por 25 a 35% de amido, dado que evidencia que a melhor eficiência na utilização do amido, reflete diretamente no resultado da produção de leite. O aumento da energia absorvida através dos AGVs e da proteína ruminal disponível para absorção, são destacados como responsáveis pelo aumento da produtividade, em função da utilização do amido em fontes de alta degradabilidade ruminal (SANTOS et al., 1998).

A utilização da tecnologia silagem de grãos úmidos de milho, assim como de silagem de grão de milho reidratados pode contribuir significativamente para a melhorara da performance animal, otimizando os custo de produção que é um dos principais gargalos na bovinocultura leiteira. Sendo assim, além dos resultados em relação ao valor nutricional e desempenho animal, devem ser observados

conjuntamente os resultados econômicos que poderão advir do emprego das técnicas mencionadas, para a composição de dieta de vacas em lactação. O aspecto econômico é de extrema relevância em atividades em que a margem de rentabilidade é baixa, como a bovinocultura leiteira (JOBIM; BRANCO; SANTOS, 2003).

## **2.9 Perfil de Ácidos Graxos do Leite**

O leite bovino tem como principal componente energético a Gordura, que também é o componente que possui maior variabilidade na composição (BAUMAN et al., 2006). O teor de gordura do leite pode variar de 2,5% a aproximadamente 4,5%, quando se trata de vacas especializadas em produção de leite (GONZÁLEZ, 2001).

A gordura do leite tem sua composição através de quatro vias basicamente, sendo: 1- Ácidos Graxos absorvidos da dieta, que são direcionados diretamente a glândula mamária e incorporados ao leite, sem passar por nenhuma modificação; 2- Ácidos Graxos absorvidos da dieta, que passam por biohidrogenação, lipólise ou síntese bacteriana no rúmen, antes de serem direcionados a glândula mamária e incorporados ao leite; 3- Ácidos Graxos sintetizados na glândula mamária a partir dos precursores que chegam pela circulação, sendo essa a principal via de composição dos AGs; 4- Ácidos Graxos mobilizados do tecido adiposo do animal, que vão para a circulação e podem ser direcionados para a glândula mamária. A quantidade e principalmente a composição da gordura do leite, estão diretamente relacionados com a via de obtenção que o ácido graxo é proveniente (STOOP et al., 2009).

Do teor total de gordura encontrado no leite bovino, cerca de 25% dos ácidos graxos são derivados da dieta, 50% dos ácidos graxos são sintetizado pelas células epiteliais da glândula mamária, pela via conhecida como síntese “de novo”, e os 25% restantes dos ácidos graxos são provenientes do plasma, sendo os modificados da dieta ou provenientes de lipomobilização (BAUMAN et al., 2006). A síntese “de novo” é a via de síntese de ácidos graxos na glândula mamária, sendo o principal precursor o acetato proveniente do rúmen, mas também podem serem usados nessa síntese o 3-hidroxibutirato e o ácido butírico. Os ácidos graxos provenientes da síntese “de novo” são os de cadeia curta e média (C4 a C14); o

C16 (palmítico) é proveniente 50% de síntese na glândula mamária e 50% proveniente da circulação (DEMEYER; DOREAU, 1999). Já os ácidos graxos de cadeia longa (acima de C16) são os trazidos pela corrente sanguínea (KESEK; SZULC; ZIELAK-STECIWKO, 2014; VYAS; TETER; ERDMAN, 2012).

Em estudo que avaliou os diversos efeitos sobre a composição de ácidos graxos do leite de vacas da raça Pardo-Suíço, concluiu-se que rebanho, sistema de produção, manejo alimentar, status sanitário, bem como características individuais dos animais podem afetar o perfil de ácidos graxos do leite (MELE et al., 2016).

O perfil de ácidos graxos do leite de bovinos é bastante variável, visto que já foram identificados mais de 400 ácidos graxos diferentes. Em geral 5% do total da gordura do leite é composta por ácidos graxos polinsaturados (AGPI), 25% por ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e os demais 70% são de ácidos graxos saturados (AGS). Já para a classificação dos ácidos graxos quanto ao tamanho da cadeia carbônica, 14% é a concentração média de ácidos graxos de cadeia curta (C4 a C10), 44% são ácidos graxos de cadeia média (C12 a C16) e em média 30% pelos ácidos graxos (saturados e insaturados) de cadeia longa  $\geq$  C18 (STOOP et al., 2009).

Na gordura do leite proveniente de ruminantes pode ser observada outra característica comum, que é a presença do ácido linoleico conjugado (CLA), que são isômeros do ácido octadecadienóico cis-9, cis-12 e cis-15. Os CLAs estão associados a vários efeitos benéficos a saúde, tais como como ação anticarcinogênica, antidiabética, antiestrogênica e estimulante do sistema imune (MOVALIYA et al., 2014). A composição da dieta sempre influencia diretamente a formação de CLA, por exemplo a presença de AGPI, que é prejudicial aos microrganismos do rúmen, pois afeta a integridade de sua membrana, para diminuir o efeito tóxico, as bactérias ruminais fazem a biohidrogenação dos AGPI (MAIA; SANTOS, 2009). Um CLA que pode ser formado é o CLA trans-10, cis-12, que influencia negativamente a síntese “de novo”, em estudo utilizando células epiteliais primárias da glândula mamária de bovinos, concluíram que altas doses do CLA trans-10, cis-12 afetam a expressão gênica da acetil-CoA carboxilase e a sintase de ácidos graxos, que são duas enzimas fundamentais para a formação dos ácidos

graxos via síntese “de novo”, o que causa uma queda no teor de gordura do leite, principalmente de AGMI (WANG et al., 2014).

Os ácidos graxos lácteos saturados, de cadeia com 18 ou mais carbonos são originados da dieta. Entre eles, o ácido esteárico é o que, normalmente, apresenta os teores mais elevados no leite (RIBEIRO et al., 2014).

Uma correlação positiva, foi observada em estudo, entre a concentração de ácidos graxos não esterificados no sangue e ácidos graxos de 18 carbonos no leite de bovinos, demonstrando que vacas que possuem maior lipomobilização apresentam maior proporção de ácidos graxos de 18 carbonos no leite (JORJONG et al., 2014).

Ácidos graxos de cadeia longa, na faixa de 18 a 20 carbonos chegam para a glândula mamária através do plasma e têm origem na dieta ou na síntese de ácidos graxos feita pelo tecido adiposo do bovino e podem representar 55% dos ácidos graxos presentes no leite (PEREIRA et al., 2004).

### **3 HIPÓTESE:**

A adição de protease em silagem de grão de milho reidratado pode proporcionar a melhora no desempenho produtivo de vacas em lactação.

### **4 OBJETIVO GERAL:**

Avaliar o desempenho produtivo de vacas em lactação alimentadas com silagem de grão de milho reidratado, com adição de protease.

### **5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Avaliar o consumo de matéria seca dos animais;
- Avaliar o desempenho produtivo e produção de leite das vacas;
- Avaliar a digestibilidade através do teor de amido fecal;
- Avaliar o perfil bioquímico sanguíneo; e
- Avaliar a síntese de proteína microbiana.

### **6 MATERIAL E MÉTODOS:**

O experimento foi realizado em um estabelecimento rural com fins comerciais no município de Icaraíma/PR, de propriedade do Sr. José Carlos Bortoli, entre os meses de janeiro a março de 2021. Foram utilizadas 24 vacas mestiças com peso médio de 529 Kg ( $\pm 254$ ), DEL (Dias em Lactação) de 100,75 ( $\pm 277,25$ ), produção de leite de 18,20 L ( $\pm 12,80$ ) e número de partos de 2,0 ( $\pm 2,0$ ).

O projeto de pesquisa desta dissertação protocolado sob nº 2106091020 foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá, por estar de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), conforme Anexo I.

As vacas foram divididas de acordo com o grupo de ordenha de 8 animais cada. O primeiro grupo recebeu a dieta CONTROLE (CON), onde a principal fonte energética foi o grão de milho seco, o segundo grupo recebeu a dieta SILAGEM DE GRÃO ÚMIDO (SGU), onde a principal fonte energética foi a silagem de grão úmido de milho reidratado sem adição da protease, e o terceiro grupo recebeu a dieta SILAGEM DE GRÃO ÚMIDO + PROTEASE (SGUP), a qual teve como principal

fonte energética a silagem de grão úmido de milho reidratado com adição da protease.

As dietas foram balanceadas de acordo com o NRC 2001, buscando garantir que se mantivessem isoenergéticas e isonitrogenadas, conforme demonstrado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Composição das dietas e dados bromatológicos dos alimentos.

Ingredientes	Dietas experimentais <sup>1</sup>		
	CON	SGU	SGUP
Mombaça	10,00	10,00	10,00
Silagem de milho	50,00	50,00	50,00
Milho moído	26,00	-	-
Silagem de grão de milho reidratado	-	26,00	-
Silagem de grão de milho reidratado + protease	-	-	26,00
Farelo de soja	11,00	11,00	11,00
Ureia	1,00	1,00	1,00
Núcleo mineral <sup>2</sup>	2,00	2,00	2,00
Composição nutricional (%MS)			
Matéria seca	51,70	49,09	49,13
Matéria orgânica	93,84	95,47	95,46
Proteína bruta	15,10	15,24	15,52
Extrato etéreo	3,81	3,17	3,31
Fibra em detergente neutro	35,63	30,95	31,23
Carboidrato não fibroso	39,29	46,10	45,39
Fibra em detergente ácido	19,90	17,82	17,96
Lignina	3,09	2,45	2,59
Cinzas	6,16	4,53	4,54
NDT <sup>3</sup>	64,59	66,38	66,46
ELL <sup>3</sup> (Mcal/kg MS)	1,44	1,49	1,49

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>). <sup>2</sup>Núcleo mineral (Ca: 110 g kg<sup>-1</sup>; P: 42 g kg<sup>-1</sup>; S: 18 g kg<sup>-1</sup>; Mg: 20 g kg<sup>-1</sup>; Na: 123 g kg<sup>-1</sup>; Co: 14 mg kg<sup>-1</sup>; Cu: 600 mg kg<sup>-1</sup>; Cr: 20 mg kg<sup>-1</sup>; Fe: 1.050 mg kg<sup>-1</sup>; I: 28 mg kg<sup>-1</sup>; Mn: 2.000 mg kg<sup>-1</sup>; Se: 18 mg kg<sup>-1</sup>; Zn: 2.800 mg kg<sup>-1</sup>; Biotina: 80 mg kg<sup>-1</sup>; Vitamina A: 240.000 UI kg<sup>-1</sup>; Vitamina D: 100.000 UI kg<sup>-1</sup>, Vitamina E: 100.000 UI kg<sup>-1</sup>. <sup>3</sup>Calculado de acordo com NRC, 2001.

As coletas de amostras dos alimentos e de material biológico dos animais (sangue, fezes, urina e leite), assim como as avaliações destes, foram realizadas nos dias 0, 14, 28, 42 e 56 do período experimental, sendo os materiais biológicos coletados 4 horas após a alimentação matinal dos animais.

Para determinar a composição dos alimentos foram realizadas análises bromatológicas de amostras dos volumosos (pastagem e silagem de milho) e de

amostras das silagens de grão úmido de milho reidratado com e sem adição de protease, que foram coletadas e congeladas a  $-10^{\circ}\text{C}$  para posterior processamento. Estas amostras foram secas a  $60^{\circ}\text{C}$  por 72 h, moídas em peneira de 1 mm em moinho Willey, na sequência as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) na Universidade Estadual de Maringá, e analisadas para MS pelo método 950.15 e proteína bruta pelo método Kjeldahl 984,13, onde  $\text{PB} = \text{N} \times 6,25$  (AOAC, 2002). A fibra detergente neutra (FDN), foi analisada pelo método de Van Soest (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991). O teor de amido das amostras foi determinado por degradação enzimática e as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro (KNUDSEN, 1997). Outras análises químicas incluíram cinzas pelo método 942.05, extrato etéreo (EE) pelo método 920.39, fibra em detergente ácido (FDA) e teor de lignina pelo método 973.18 (AOAC, 2002). Os teores de nutrientes digestivos totais (NDT) e energia líquida de lactação (ELL) foram calculados de acordo com (NRC, 2001).

A ingestão de matéria seca foi determinada através do registro diário das quantidades fornecidas de alimentos aos animais e pelas análises bromatológicas que foram realizadas das amostras coletadas. Os ajustes das quantidades de fornecimento das dietas ao longo da avaliação foram determinados de acordo com a rotina normal da propriedade. A qual realiza o fornecimento individualizado aos animais, de 1 Kg de ração para cada 3 litros de leite produzido por dia, e os ajustes de quantidade fornecida eram realizados a cada 14 dias.

Amostras da silagem de milho, forragem conservada, utilizada nas dietas dos animais observados foram submetidas ao Penn State separador de partículas (HEINRICHS, 2013), a qual apresentou a composição de partículas conforme descrito na Tabela 3.

**Tabela 3.** Distribuição do tamanho de partícula da forragem.

Peneiras	Tamanho de Partícula (%)
	Silagem de Milho
> 38 mm	13
38 – 19 mm	62
19 – 8 mm	21
< 8 mm	4

Determinado com separador de partículas (PENN STATE)

Foram coletadas 2 amostras de 300 gramas de fezes cada, do reto de todos os animais. Uma das amostras foi utilizada para a avaliação do resíduo fecal, através da lavagem das fezes em peneira de 1mm, logo após a coleta, a qual após drenadas foi pesada. A outra amostra após coletada foi devidamente identificada e congelada a -10°C, para posterior determinação da matéria seca (método 950.15; AOAC 2000) e amido fecal, conforme metodologia descrita por Hendrix (1993).

O peso corporal foi determinado com o uso da fita torácica de pesagem para bovinos leiteiros (Bovitec®), que apresenta grau de confiança de 95% (ABREU et al., 2015).

A avaliação da Condição de Escore Corporal foi realizada por um único avaliador, onde se utiliza uma escala de 1 a 5, para a classificação de vacas abaixo e acima do peso respectivamente, com intervalos de 0,25 pontos (FERGUSON; GALLIGAN; THOMSEN, 1994).

A produção de leite foi mensurada, nas duas ordenhas realizadas no dia, através de medidores volumétricos da marca MILKMETER® acoplados ao equipamento de ordenha.

Para a determinação da composição do leite, foram coletadas amostra representativas das duas ordenhas diárias de todos os animais, armazenadas em frascos de coletas (40 ml) contendo o conservante bronopol na forma de comprimido. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) que determinou através da técnica de infravermelho os parâmetros de Gordura, Proteína, Lactose, Extrato Seco Desengordurado, Extrato Seco Total e Nitrogênio Ureico do Leite, enquanto a técnica de citometria de fluxo foi utilizada para a determinação da variável Contagem de Células Somáticas (CCS).

Foram coletadas amostras de sangue de todos os animais avaliados. As amostras foram coletadas na veia coccígea, em tubos de 4 ml siliconizado seco a vácuo com ativador de coagulação, após a coleta as amostras foram centrifugadas para separação do soro que foi congelado a -10°C para posterior determinação de Glicose, Colesterol Total, Triglicerídeos, Proteína Total, Albumina, Ureia e Nitrogênio Ureico. As amostras foram analisadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá – Campus Umuarama, onde determinou-se através de kits comerciais da marca Labtest®. A



Glicose, Colesterol Total e Triglicerídeos foram determinados em sistema enzimático por reação de ponto final. Proteína Total e Albumina foram determinadas por reação colorimétrica de ponto final. A Ureia também foi determinada em sistema enzimático, no entanto através da cinética de reação em dois tempos fixos, já o Nitrogênio Ureico foi calculado a partir dos resultados de Ureia multiplicando-os pelo fator 0,4667.

Também foram coletadas amostras de urina spot de todos os animais. A amostra de urina foi coletada por micção induzida, filtrada em gaze e uma alíquota de 30 ml foi acondicionada em coletor universal estéril de 50 ml, onde recebeu a adição de uma gota de solução PA (36N) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e congelada a -10°C, para posterior determinação de Ácido Úrico, Alantoína, Purinas Totais, Purinas Absorvíveis, Nitrogênio e Proteína Bruta. As amostras foram analisadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá – Campus Umuarama, onde determinou-se através de kits comerciais da marca Labtest®. As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico (CHEN; GOMES, 1992; FUJIHARA et al., 1987). A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina e leite expressos em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol dia<sup>-1</sup>) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol dia<sup>-1</sup>), por meio da equação:

$$DP = 0,85 Pabs + 0,385 PV 0,75$$

Em que: “0,85” é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e “0,385 PV 0,75”, a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC et al. 1990).

O volume urinário foi calculado da seguinte maneira:

$$VU (L \text{ dia}^{-1}) = (27,36 PV) [\text{creatinina}]^{-1}$$

Onde: 27,36 representam o valor da excreção diária média de creatinina, em ppm PV (RENNÓ et al., 2008), PV é o peso vivo do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg L<sup>-1</sup>, encontrada na amostra de urina spot.

A análise de ácidos graxos do leite foi realizada somente no último período do experimento, sendo realizada a coleta de uma amostra ( $\pm 200$  ml) de leite de apenas de um dia, sendo uma alíquota da ordenha matutina e uma da ordenha vespertina. Para o processo de extração, as amostras foram centrifugadas a 17.800 x g por 30

minutos a 4 °C e próximo a 19.300 x g por 20 minutos a 4 °C, de acordo com Feng et al. (2004). A gordura separada (300-400 mg) foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer et al. (1997). Dois padrões internos C18:0 e C19:0 foram utilizados para corrigir as perdas durante o processo de metilação. A extração da gordura dos alimentos foi realizada de acordo com o método de Folch et al. (1957) e de metilação realizada de acordo com Kramer et al. (1997). Os lipídeos foram extraídos por homogeneização da amostra com uma solução de clorofórmio e metanol 2:1. Em seguida os lipídeos foram isolados após a adição de solução de NaCl a 1,5%. Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu 2010, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m x 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70 °C por 4 minutos (13°C/minuto) até chegar a 175°C, mantendo por 27 minutos. depois, um novo aumento de 4°C/minuto, foi iniciado até 215°C, mantendo durante 31 minutos. Hidrogênio (H<sub>2</sub>) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm/s. durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-C24 de ácidos graxos (Supelco ® TM 37), ácido vacênico C18:1 *trans*-11 (V038-1g, Sigma®), C18:2 CLA *trans*-10, *cis*-12 (UC-61M 100mg), e C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (UC-60M 100mg), (NU-CHEK-PREP EUA ®) para identificação dos ácidos graxos que são formados durante a bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados.

O delineamento adotado foi inteiramente ao acaso, com análise de médias e de contrastes ortogonais, onde C1 = CON *versus* SGU + SGUP e C2 = SGU *versus* SGUP, realizadas por meio do programa SAS. Diferenças estatísticas foram consideradas a 5% de probabilidade.

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j + T_k + D_j T_k + e_{ijk}$$

Onde:  $Y_{ijy}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito de animal ( $i = 1$  a 32),  $D_j$  = efeito de dieta ( $j = 1$  a 3),  $T_k$  = efeito de tempo ( $k = 1$  a 5),  $D_j T_k$  = efeito de interação dieta\* Tempo e  $e_{ijk}$  = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por:  $A_i$ . Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM= kr. Os

dados obtidos foram submetidos à análise de variância e analisados por mediadas repetidas no tempo pelo comando PROC MIXED (SAS, 2004), adotando-se significância de 5%.

## 7 RESULTADOS:

Na Tabela 4 são demonstrados os dados referentes ao consumo das três dietas experimentais em relação aos parâmetros de, eficiência do consumo, avaliação de fezes e digestibilidade do amido alcançada pelos animais. Quanto ao consumo de matéria seca as vacas suplementadas com SGUP apresentaram maior consumo de matéria seca total ( $16,39 \text{ kg dia}^{-1}$ ) em relação para SGU ( $15,57 \text{ kg dia}^{-1}$ ) e CON ( $15,13 \text{ kg dia}^{-1}$ ), com significância de  $P \leq 0,005$ , também houve efeito de tempo ( $P \leq 0,003$ ), no entanto não ocorreu efeito de interação entre dieta e tempo ( $P \leq 0,102$ ). Nos contrastes C1 (SGU + SGUP *versus* CON) ( $P \leq 0,011$ ), assim como no C2 (SGUP *versus* SGU ( $P \leq 0,035$ )) houve significância entre os resultados para esta mesma variável.

Ao avaliar a eficiência (Tabela 4), as razões entre PL (Produção de Leite) com o CMS (Consumo de Matéria Seca) também foram maiores para as vacas suplementadas com SGUP ( $1,22 \text{ L Kg}^{-1}$ ) em relação a SGU ( $1,10 \text{ L Kg}^{-1}$ ) e CON ( $1,09 \text{ L Kg}^{-1}$ ), assim como para o contraste C2 ( $P \leq 0,046$ ), enquanto C1 ( $P \leq 0,212$ ), não apresentou diferença. Houve efeito de tempo ( $P \leq 0,033$ ), mas não houve interação entre dieta e tempo ( $P > 0,096$ ).

Já a razão entre produção de leite corrigida e consumo de matéria seca, não apresentou diferença entre as vacas suplementadas com CON ( $1,31 \text{ L Kg}^{-1}$ ); SGU ( $1,33 \text{ L kg}^{-1}$ ) e SGUP ( $1,35 \text{ L kg}^{-1}$ ) ou seus contrastes C1 ( $P \leq 0,565$ ) e C2 ( $P \leq 0,423$ ), assim como para a razão ECM (conteúdo de energia líquida do leite) pelo CMS os resultados não diferiram estatisticamente para as vacas suplementadas com as dietas CON ( $1,32 \text{ Mcal kg}^{-1}$ ); SGU ( $1,34 \text{ Mcal kg}^{-1}$ ) e SGUP ( $1,36 \text{ Mcal kg}^{-1}$ ), e entre os contrastes C1 ( $P \leq 0,118$ ) e C2 ( $P \leq 0,528$ ), também não houve efeito de tempo e interação.

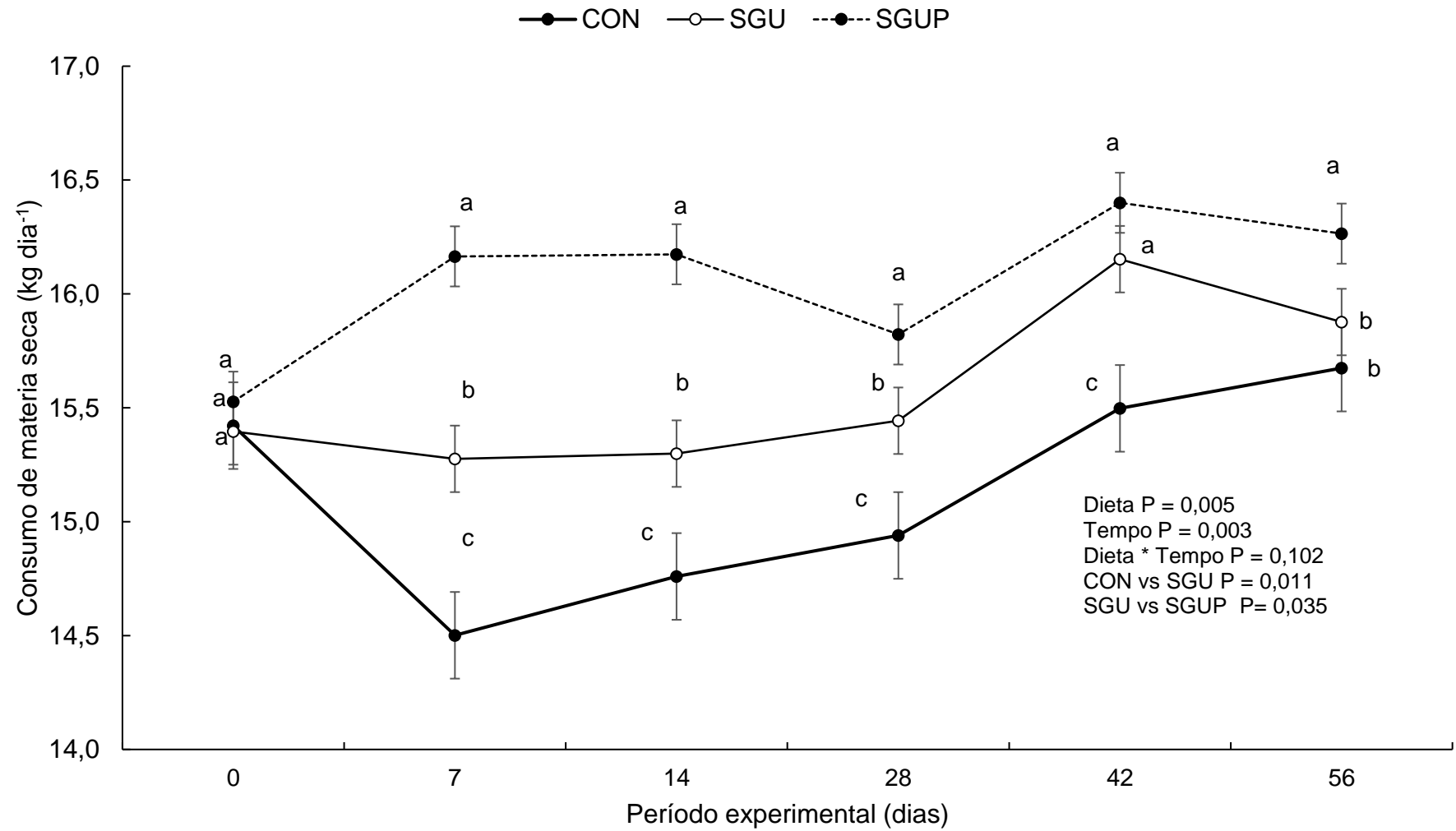
O Resíduo Fecal as vacas suplementadas com as dietas CON (18,88%); SGU (19,83%) e SGUP (19,51%), não apresentou diferença entre os tratamentos ( $P > 0,157$ ), assim como não houve diferença nos contrastes C1 ( $P > 0,338$ ) e C2 ( $P \leq 0,325$ ), no tempo e na interação.

Já para os resultados do Amido Fecal as vacas suplementadas com as dietas apresentaram diferença significativa ( $P < 0,0001$ ), onde a SGUP (4,69%) foi inferior a SGU (5,51%) e ao CON (7,45%), e também para os contrastes C1 ( $P \leq 0,015$ ) e C2 ( $P < 0,0001$ ), mas não ocorreram efeito de tempo e interação.

**Tabela 4.** Consumo, eficiência de consumo e avaliação de fezes de vacas alimentadas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Kg dia <sup>-1</sup>									
Consumo de matéria seca total	15,13	15,57	16,39	0,207	0,005	0,003	0,102	0,011	0,035
Consumo de concentrado	6,19	6,75	6,85	0,160	0,138	0,011	0,016	0,051	0,787
Consumo de silagem	8,80	8,99	9,44	0,163	0,247	0,009	0,139	0,232	0,262
% Peso corporal									
Consumo de matéria seca	2,83	2,92	3,03	0,029	0,018	0,075	0,010	0,030	0,106
Eficiência <sup>4</sup>									
PL CMS <sup>-1</sup>	1,09	1,10	1,22	0,025	0,048	0,033	0,096	0,212	0,046
PLC CMS <sup>-1</sup>	1,31	1,33	1,35	0,028	0,231	0,515	0,335	0,565	0,423
ECM CMS <sup>-1</sup>	1,32	1,34	1,36	0,026	0,831	0,231	0,437	0,118	0,528
Avaliação das fezes (%)									
Resíduo fecal	18,88	19,83	19,51	0,492	0,157	0,234	0,458	0,338	0,325
Amido fecal	7,45	5,51	4,69	0,012	<,0001	0,088	0,730	<,0001	0,015
Digestibilidade total amido	92,54	94,48	95,30	2,547	<,0001	0,088	0,730	<,0001	0,015

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>); <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (Controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP), <sup>4</sup>PL CMS<sup>-1</sup> (Produção de leite pelo consumo de matéria seca); PLC CMS<sup>-1</sup> (Produção de leite corrigida a 3,5% de gordura pelo consumo de matéria seca); ECM CMS<sup>-1</sup> (Energia líquida do leite pelo consumo de matéria seca).



**Figura 1.** Consumo de matéria seca ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.

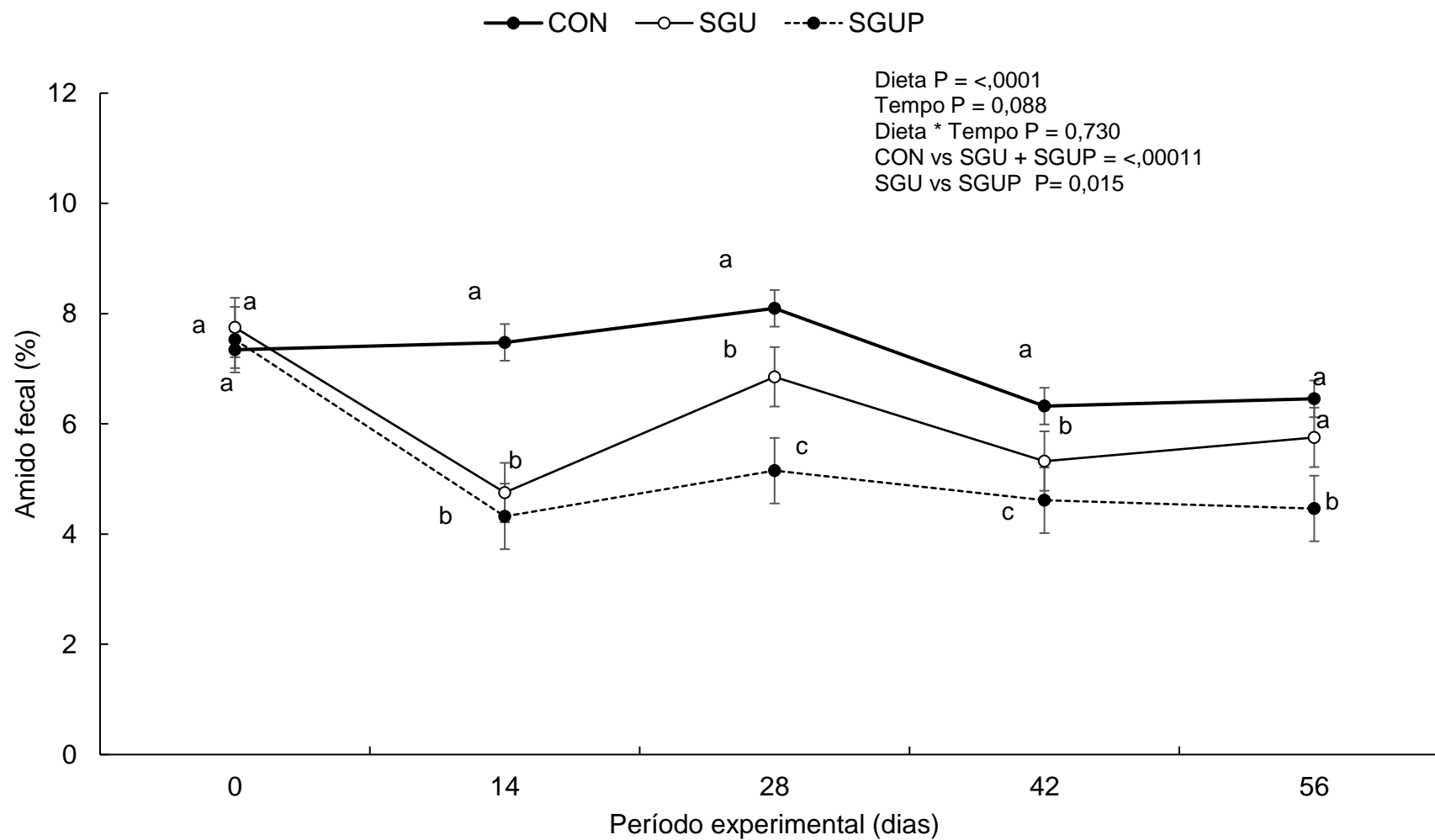
O consumo de matéria seca das vacas suplementadas com SGUP na maioria dos períodos de avaliação foi superior ao consumo de matéria seca das vacas que receberam SGU, assim como os animais alimentados com SGU em grande parte dos períodos foi maior que os animais que receberam a dieta CON (Figura 1).

O Amido Fecal das vacas suplementadas com a dieta CON a partir do segundo período de avaliação do experimento foi superior ao das vacas que receberam SGU e/ou SGUP. Sendo que no último período de avaliação (56 dias), apenas a SGUP apresentou diferença da dieta (Figura 2).

Na tabela 5 observa-se que as vacas suplementadas com SGUP apresentaram maior PL ( $20,22 \text{ kg dia}^{-1}$ ) em relação a SGU ( $17,26 \text{ kg dia}^{-1}$ ) e CON ( $16,80 \text{ kg dia}^{-1}$ ), com significância de ( $P \leq 0,005$ ), também houve diferença nos contrastes C1 ( $P \leq 0,041$ ), assim C2 ( $P \leq 0,013$ ), não houve efeito de tempo, mas houve interação entre tempo e dieta. Já a PLC (produção de leite corrigida para 3,5% de gordura) foi maior para as vacas suplementadas com SGUP ( $22,66 \text{ kg dia}^{-1}$ ), seguida pelas alimentadas com CON ( $18,56 \text{ kg dia}^{-1}$ ) e SGU ( $17,56 \text{ kg dia}^{-1}$ ) de forma significativa ( $P \leq 0,001$ ) os contrastes C1 ( $P \leq 0,021$ ), assim C2 ( $P \leq 0,002$ ) foram significativos, assim como na PL não houve efeito de tempo, mas houve interação entre tempo e dieta.

O comportamento dos resultados experimentais para teor de gordura do leite foi similar a PLC, onde as vacas suplementadas com SGUP apresentou maior teor (4,05%) seguido pelas alimentadas com CON (4,03%) e SGU (3,56%), com valor de  $P \leq 0,001$ . Para o contraste C2 ( $P \leq 0,003$ ) a diferença foi significativa, enquanto para C1 ( $P \leq 0,775$ ) não houve diferença, assim como para tempo e interação tempo e dieta. Também foi observado diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para a composição do leite (proteína, lactose e nitrogênio ureico), enquanto os sólidos totais e desengordurados não foi observado diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos.

O peso corporal, escore de condição corporal, movimentação de peso corporal e movimentação de escore de condição corporal não foram influenciadas pelas dietas experimentais ( $P > 0,05$ ), apresentando apenas efeito de tempo para peso corporal ( $P < 0,0001$ ), escore de condição corporal ( $P \leq 0,001$ ), e movimentação de peso corporal ( $P \leq 0,007$ ).



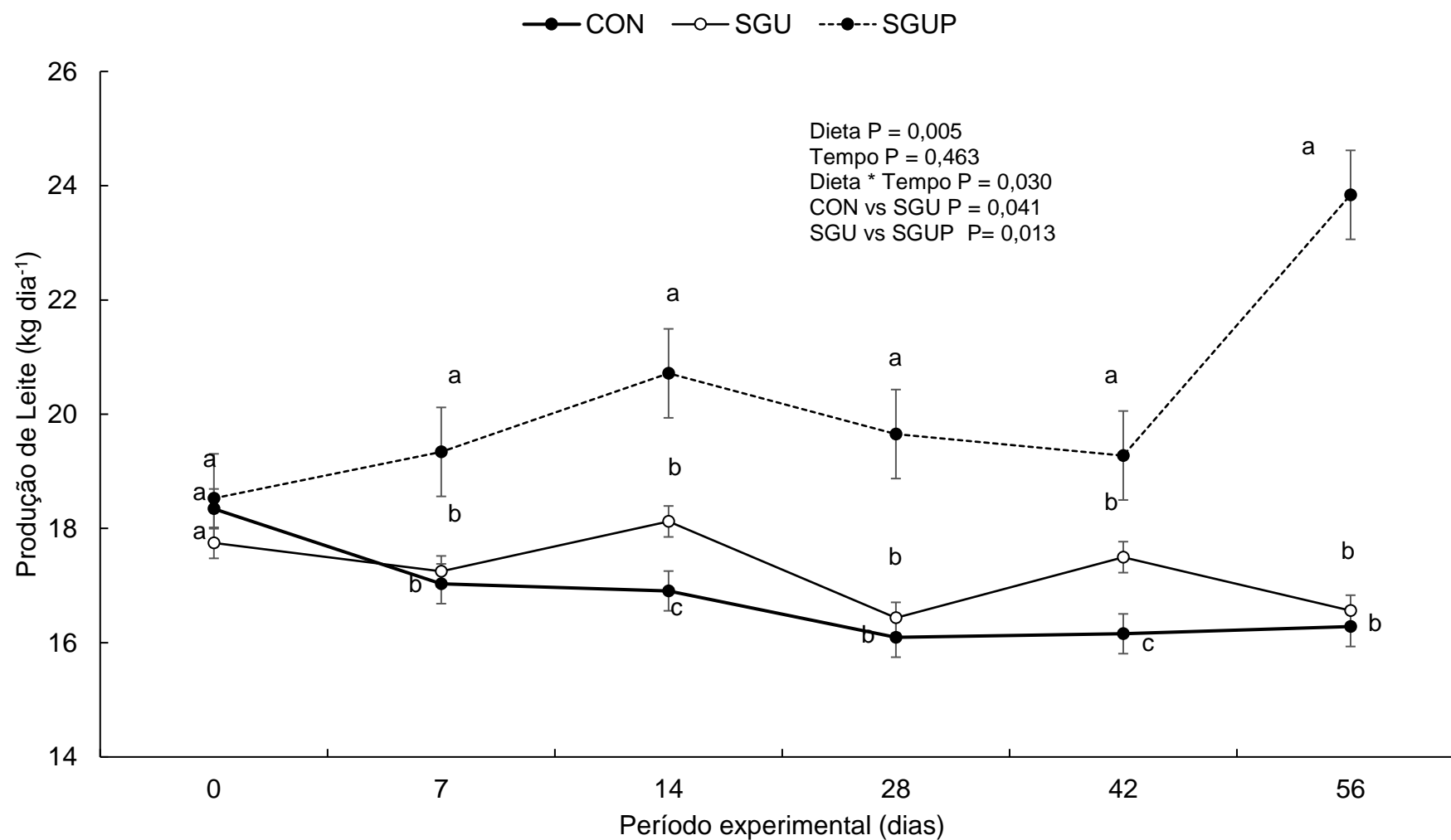
**Figura 2.** Amido Fecal ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.



**Tabela 5.** Desempenho produtivo, qualidade do leite e condição corporal das vacas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Kg dia <sup>-1</sup>									
Produção de leite	16,80	17,26	20,22	0,518	0,005	0,463	0,030	0,041	0,013
Produção corrigida 3,5%	18,56	17,56	22,66	0,574	0,001	0,564	0,055	0,021	0,002
Energia corrigida (Mcal dia <sup>-1</sup> )	19,03	17,89	22,95	0,552	0,002	0,502	0,461	0,032	0,011
Gordura	0,677	0,614	0,819	0,022	0,012	0,547	0,214	0,124	0,002
Proteína	0,557	0,605	0,721	0,015	0,005	0,321	0,154	0,002	0,231
Lactose	0,809	0,747	0,996	0,025	0,002	0,150	0,021	0,278	0,001
Sólidos totais	2,41	2,25	2,61	0,064	0,111	0,192	0,065	0,912	0,038
%									
Gordura	4,03	3,56	4,05	0,083	0,001	0,815	0,435	0,775	0,003
Proteína	3,32	3,51	3,57	0,040	0,031	0,371	0,037	0,008	0,318
Lactose	4,37	4,42	4,55	0,025	0,052	0,013	0,390	0,074	0,098
Sólidos totais	13,27	13,15	13,09	0,109	0,338	0,698	0,146	0,132	0,124
Sólidos desengordurado	8,87	8,92	8,86	0,047	0,195	0,217	0,201	0,499	0,096
Nitrogênio ureico leite (mg dL <sup>-1</sup> )	12,78	10,78	10,45	0,533	0,002	0,005	0,078	0,005	0,962
CCS, (Log <sub>10</sub> )	2,62	2,83	2,30	0,057	0,023	0,209	0,069	0,770	0,032
Peso corporal (kg)									
MPC <sup>4</sup>	545	534	541	7,800	0,125	<,0001	0,459	0,137	0,160
ECC <sup>5</sup>	7,25	4,70	5,17	2,168	0,562	0,001	0,447	0,291	0,850
MECC <sup>6</sup>	3,12	3,04	2,98	0,035	0,166	0,007	0,136	0,106	0,356
	0,031	0,068	0,037	0,024	0,485	0,312	0,112	0,450	0,350

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>); <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP), <sup>4</sup>Movimentação do peso corporal, <sup>5</sup>Escore de condição corporal, <sup>6</sup>Movimentação do escore de condição corporal.



**Figura 3.** Produção de leite ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.

**Tabela 6.** Perfil de ácido graxos do leite produzido pelas vacas de acordo com as dietas experimentais.

Ácidos Graxos (g/100g)	Dietas Experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
C4:0	1,615	1,629	1,603	0,008	0,312	<,0001	0,056	0,925	0,129
C6:0	1,614	1,583	1,584	0,007	0,036	0,023	0,075	0,010	0,939
C8:0	2,929	2,900	2,926	0,008	0,101	0,295	0,259	0,206	0,088
C10:0	6,802	6,754	6,733	0,023	0,382	0,036	0,341	0,185	0,672
C12:0	4,198	4,206	4,213	0,004	0,389	0,004	0,451	0,222	0,520
C14:0	11,31	11,29	11,28	0,018	0,509	<,0001	0,007	0,285	0,626
C14:1	0,055	0,053	0,054	0,001	0,151	0,001	0,004	0,053	0,895
C15:0	1,461	1,462	1,463	0,004	0,957	0,076	0,225	0,861	0,810
C15:1	0,195	0,201	0,210	0,002	0,003	<,0001	0,186	0,024	0,006
C16:0	27,41	27,47	27,68	0,046	0,041	<,0001	0,054	0,114	0,034
C16:1	0,976	0,961	0,956	0,004	0,043	0,790	0,666	0,029	0,601
C17:0	0,175	0,168	0,167	0,002	0,214	<,0001	0,897	0,223	0,334
C17:1	0,414	0,423	0,412	0,004	0,354	<,0001	0,702	0,666	0,173
C18:0	14,30	14,29	14,16	0,029	0,113	0,115	0,021	0,218	0,088
<i>cis</i> 11, C18:1	7,18	7,15	7,19	0,013	0,568	0,439	0,030	0,545	0,387
<i>cis</i> 9, C18:1	13,51	13,60	13,56	0,031	0,544	0,598	0,088	0,329	0,619
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12, C18:2	1,546	1,553	1,532	0,007	0,404	<,0001	0,449	0,776	0,187
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15, C18:3	1,553	1,561	1,536	0,002	0,177	0,008	0,334	0,701	0,085
C20:0	0,847	0,852	0,857	0,006	0,028	0,897	0,959	0,041	0,243
C22:0	0,851	0,855	0,850	0,002	0,557	0,224	0,554	0,557	0,225
C24:0	0,160	0,161	0,163	0,002	0,447	0,225	0,521	0,412	0,842
Sumário									
Σ 4- a 14-C <sup>4</sup>	28,53	28,42	28,40	0,033	0,146	0,008	0,161	0,112	0,724
Σ acima de 16-C <sup>5</sup>	69,80	69,91	69,92	0,033	0,180	0,005	0,158	0,066	0,822
Σ AGS <sup>6</sup>	73,69	73,63	73,70	0,034	0,740	0,752	0,261	0,716	0,504
Σ AGI <sup>7</sup>	25,32	25,40	25,34	0,034	0,686	0,707	0,221	0,559	0,527
Σ AGMI <sup>8</sup>	22,34	22,39	22,37	0,033	0,860	0,808	0,147	0,623	0,870
Σ AGPI <sup>9</sup>	3,950	3,960	3,920	0,010	0,452	0,002	0,564	0,087	0,124
Σ AGCI <sup>10</sup>	2,251	2,253	2,252	0,005	0,124	0,225	0,874	0,556	0,789
Relação sat/insat <sup>11</sup>	2,91	2,89	2,90	0,006	0,224	0,087	0,665	0,335	0,442

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g/ton de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI/g).<sup>2</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1(controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP).

<sup>4</sup>Ácidos graxos de 4 a 14 carbonos. <sup>5</sup>Ácidos graxos com mais de 16 carbonos. <sup>6</sup>Ácidos graxos saturados. <sup>7</sup>Ácidos graxos insaturados <sup>8</sup>Ácidos graxos monoinsaturados. <sup>9</sup>Ácidos graxos poliinsaturados. <sup>10</sup>Ácidos graxos de cadeia ímpar. <sup>11</sup>Relação ácidos graxos saturados/insaturados total.

As vacas alimentadas com SGUP apresentaram contagem de células somáticas menores em relação as vacas alimentadas com as demais dietas ( $P \leq 0,023$ ), e não houve efeito de tempo ( $P > 0,209$ ) e interação ( $P > 0,069$ ).

A Produção de Leite das vacas alimentadas com a dieta experimental SGUP a partir do segundo período de avaliação do experimento foi superior ao das vacas que receberam SGU e CON, conforme demonstrado na Figura 3.

Quanto ao perfil de ácidos graxos do leite (Tabela 6) vacas alimentadas com a dieta CON apresentaram mais ácidos graxos das cadeias carbônicas C6 e C16:1 frente as que receberam as dietas SGU e SGUP, assim como foi maior para o contraste C1. Para C15:1 as vacas alimentadas com SGUP obtiveram resultado superior as que receberam SGU que também foi superior a CON o que é confirmado pelo efeito no C1 e C2. Já para cadeia C16:0, vacas alimentadas com SGUP também obtiveram resultado superior as que receberam a dieta SGU e a CON, mas a dieta SGU não foi superior ao controle, conforme demonstrado pelo efeito de apenas C2. Para C20:0 as vacas alimentadas com SGUP obtiveram resultado superior apenas em relação a dieta CON e C1. Para as demais cadeias carbônicas e agrupamentos de ácidos graxos não houve efeito das dietas.

As vacas suplementadas com as dietas SGUP e SGU apresentaram maior concentração plasmática de glicose ( $P \leq 0,0001$ ) em relação a dieta CON. Já para a concentração de colesterol total do grupo CON foi maior que dos grupos SGUP e SGU ( $P \leq 0,042$ ). Os parâmetros de triglicerídeos ( $P > 0,320$ ), proteína total ( $P > 0,149$ ) e albumina ( $P > 0,170$ ) não diferiram entre os tratamentos. Enquanto os níveis de ureia ( $P \leq 0,0001$ ) e nitrogênio ureico ( $P \leq 0,0001$ ), foram maiores para os animais alimentados com a dieta CON (Tabela 7).

Na avaliação síntese de proteína microbiana (Tabela 8), observou-se que não houve diferenças na concentração ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) de ácido úrico ( $P > 0,168$ ), alantoína ( $P > 0,746$ ), purinas totais ( $P > 0,694$ ). Assim como a excreção ( $\text{mmol dia}^{-1}$ ) de ácido úrico ( $P > 0,144$ ), alantoína ( $P > 0,381$ ) também não apresentaram diferença. Na avaliação da excreção das purinas totais ( $P \leq 0,021$ ) e purinas absorvíveis ( $P \leq 0,018$ ) os resultados foram maiores para as vacas suplementadas com a dieta SGUP. De maneira semelhante na avaliação da excreção do nitrogênio ( $P \leq 0,002$ ) e proteína bruta ( $P \leq 0,002$ ) foram observados maiores valores para os animais alimentados com SGUP.

**Tabela 7.** Perfil bioquímico do sangue de vacas em lactação tratadas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )	60,98	75,56	76,39	4,094	<,0001	0,078	0,810	0,024	0,912
Colesterol total (mg dL <sup>-1</sup> )	155,83	134,00	127,20	7,566	0,042	<,0001	0,319	0,033	0,616
Triglicerídeos (mg dL <sup>-1</sup> )	217,98	204,36	209,44	3,772	0,320	0,003	0,647	0,161	0,575
Proteína total (g L <sup>-1</sup> )	8,66	9,10	8,46	0,156	0,149	<,0001	0,047	0,672	0,057
Albumina (g L <sup>-1</sup> )	3,36	3,28	3,64	0,096	0,170	0,016	0,750	0,582	0,072
Ureia (mg dL <sup>-1</sup> )	28,42	21,24	23,90	0,752	<,0001	0,072	0,105	0,033	0,396
Nitrogênio ureico (mg dL <sup>-1</sup> )	12,33	9,22	10,37	0,326	<,0001	0,072	0,105	0,033	0,396

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>); <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP).

**Tabela 8.** Síntese de proteína microbiana de vacas em lactação tratadas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Ácido úrico (mmol L <sup>-1</sup> )	1,35	1,38	1,74	0,057	0,168	0,029	0,959	0,296	0,115
Alantoína urina (mmol L <sup>-1</sup> )	40,98	39,37	42,21	1,475	0,746	0,429	0,025	0,954	0,447
Alantoína leite (mmol L <sup>-1</sup> )	0,901	0,866	0,928	0,032	0,658	0,451	0,065	0,984	0,445
Purinas totais (mmol L <sup>-1</sup> )	43,23	41,62	44,88	1,510	0,694	0,377	<,0001	0,995	0,394
Ácido úrico (mmol dia <sup>-1</sup> )	20,79	21,18	27,04	0,962	0,144	0,003	0,506	0,278	0,099
Alantoína urina (mmol dia <sup>-1</sup> )	656,28	592,96	659,20	26,085	0,381	0,239	<,0001	0,287	0,064
Alantoína leite (mmol dia <sup>-1</sup> )	15,67	13,04	19,93	0,824	0,387	0,235	0,002	0,288	0,075
Purinas totais (mmol dia <sup>-1</sup> )	692,75	627,19	706,18	26,665	0,021	0,226	0,023	0,085	0,001
Purinas absorvíveis (mmol dia <sup>-1</sup> )	674,71	607,68	686,52	26,670	0,018	0,335	0,003	0,095	0,015
<i>Síntese microbiana (g dia<sup>-1</sup>)</i>									
Nitrogênio	490,54	441,81	499,13	19,390	0,002	0,338	0,021	0,112	0,036
Proteína bruta	3065	2761	3119	121,19	0,002	0,338	0,021	0,112	0,036

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>); <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP).

## 8 DISCUSSÃO:

Em função da quebra da matriz proteica composta por zeína, muito presente no endosperma dos grãos utilizados, do tipo “*Flint*” (DELCOUR; HOSENEY, 2010). A silagem de grãos de milho reidratado com ação da protease, ao chegar ao rumem dos animais passa a ter o amido degradado pela microbiota ruminal de forma mais facilitada frente as outras dietas (JUNGES et al., 2017).

Com a chegada do amido ao rúmen, inicia-se seu processo de fermentação juntamente a outros carboidratos da dieta. Os microrganismos envolvidos são bactérias e protozoários, sendo as bactérias principais responsáveis pela digestão do amido. A hidrólise do amido é iniciada com a adesão das bactérias ruminais ao grânulo de amido, onde ocorre uma interação envolvendo forças de van der Waals com a superfície do substrato, este processo começa com uma interação iônica hidrofóbica, envolvendo a anulação das cargas tanto da membrana celular da bactéria quanto do substrato, principalmente Ca e Mg, pois ambas tem carga negativa no exterior (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991).

Em grãos de milho inteiros, assim como em grãos com endosperma vítreo, a adesão das bactérias é prejudicada pelo pericarpo e pela matriz proteica que envolve o amido, que são mais resistentes à digestão por dificultarem a ação das enzimas (HUNTINGTON, 1997). Sendo este o ponto focal para a diferença no processo de digestão do amido da dieta com a silagem de grão de milho reidratado com a adição de protease, pois no processo de ensilagem ocorre a quebra do pericarpo durante a moagem do grãos, ocorre a hidratação, que também acelera o processo de adesão das bactérias, e a ação da protease realiza a quebra da matriz proteica que envolve os grânulos de amido. Sendo assim o amido proveniente da silagem de grão de milho reidratado com a adição de protease fica prontamente disponível, acelerando o processo de adesão das bactérias ao grânulo de amido e consequentemente o processo de degradação deste.

Com o aumento da velocidade de ataque ao grânulo de amido, uma maior parte deste consegue ser degradado, e consequentemente os produtos gerados desta degradação (oligossacarídeos, dissacarídeos ou monossacarídeos) são mais absorvidos pelas bactérias e passam a ser utilizados para a produção de proteína microbiana ou ácidos graxos voláteis, sendo estes a principal fonte de energia para os ruminantes (KOZLOSKI, 2011). O que neste trabalho foi comprovado pelo maior

concentração de glicose plasmática para os animais que receberam as dietas com silagens de grãos reidratados, assim como a maior síntese microbiana para os animais que receberam a dieta com adição de protease.

Neste trabalho, as vacas alimentadas com a dieta composta por SGUP tiveram uma maior ingestão que as alimentadas com SGU e CON ao longo de todo período experimental (Figura 1). Em avaliação com vacas recebendo silagem de grãos de milho reidratado em substituição do milho moído seco, a partir de dietas com cana-de-açúcar como volumoso, o consumo de matéria seca foi maior para silagem de grãos de milho reidratado (ARCARI et al., 2016b). Estudo avaliando dietas com silagem de grãos de milho reidratado substituindo o milho seco moído observou efeito no consumo de matéria seca, quando comparado aos demais tratamentos (MENDES, 2013). Ovinos alimentados com silagem de grão de milho reidratados com adição de enzimas amilolíticas apresentaram maior consumo de matéria seca em relação ao controle sem adição de enzimas amilolíticas (CARMO et al., 2018).

A produção de leite foi 17% ( $2,96 \text{ kg dia}^{-1}$ ) maior para as vacas alimentadas com SGUP em relação as alimentadas com SGU e de 20% ( $3,42 \text{ kg dia}^{-1}$ ) em relação aos alimentados com CON. A diferença na produção de leite com a utilização do processo de ensilagem e adição da protease nesse trabalho é oposto aos resultados de estudo que ao substituírem a silagem de grão úmido pelo grão seco moído não observaram diferenças na produção ou na composição do leite, relatando que a digestão pós-ruminal do amido do grão seco compensou a alta digestibilidade ruminal apresentada nas vacas que consumiram silagem de grão de milho úmido (BRODERICK, 2003). Pode ocorrer o deslocamento do local de digestão do amido do rúmen para o intestino, fazendo com que haja maior digestão do amido no intestino grosso para o tratamento de milho moído seco em comparação com o milho úmido (OBA; ALLEN, 2003). Outro fator a ser considerado é o tempo de ensilagem, pois a matriz proteica do grão de milho é degradada durante o processo de ensilagem, o que facilita o acesso de microrganismos ruminais aos grânulos de amido (YOUNG et al., 2012). Ao avaliarem o efeito do tempo de ensilagem do milho moído reidratado sobre a degradabilidade *in situ* do amido, observa-se que a quantidade de amido que apresenta comportamento de fração rapidamente degradável aos 330 dias, foi aproximadamente 250% maior do

que aos três dias da ensilagem (ARCARI et al., 2016a). Então, a progressiva degradação da matriz proteica do milho pela atividade microbiana ruminal e pelos produtos finais da fermentação podem possivelmente ser explicados pelo aumento da degradabilidade do amido ao longo do período de armazenamento o que não interfere diretamente no consumo dos animais, porém pode influenciar positivamente a digestibilidade da matéria seca e nutrientes, ocasionando o consequente aumento da produção de leite.

Avaliando a eficiência alimentar, os animais alimentados com SGUP obtiveram resultados superiores aos demais tratamentos, o que pode ser comprovado pelo menor amido fecal encontrado e consequente digestibilidade total do amido, assim como pela maior produção de leite em função do consumo de matéria seca (Tabela 4). Animais alimentados com silagem de grão de milho reidratado obtiveram maior eficiência alimentar do que os alimentados com milho seco moído (PASSINI et al., 2008). O que corrobora com estudo que verificou uma interação positiva ao avaliar os efeitos da reidratação e ensilagem do grão de milho na degradabilidade ruminal (ANDRADE FILHO et al., 2010).

O peso vivo das vacas e escore de condição corporal não teve efeito das dietas. No entanto observou-se que os animais estavam em condição corporal adequada para um bom desempenho de produção de leite, sendo sugerido que vacas ao início da lactação devem ter como escore corporal ideal  $3,00 \pm 0,25$  pontos, vacas no meio da lactação  $3,25 \pm 0,25$  e ao fim da lactação  $3,50 \pm 0,25$  (FERGUSON; GALLIGAN; THOMSEN, 1994). O peso vivo e escores de condição corporal não foram afetados pelo processamento dos grãos de milho (YU et al., 1998). Bovinos alimentados com dietas à base de grãos de milho processados produziram a mesma quantidade de leite, e mantiveram seu peso e escore corporal (PRIOR, 1983).

Uma das formas de avaliar a digestibilidade do amido na dieta de vacas em lactação é através da análise do amido fecal (FREDIN et al., 2014). A avaliação da concentração fecal de amido provou ser precisa como um preditor de degradação e digestibilidade de amido por vacas leiteiras (VILLOT et al., 2020). O teor de amido encontrado nas fezes foi menor para as vacas alimentadas com silagem de grãos de milho reidratados (5,51%), e a adição de protease favoreceu a redução do teor de amido fecal (4,69%), enquanto o controle obteve o maior valor (7,45%) (Tabela



3), resultado que corrobora com a hipótese deste trabalho. Valores de amido fecal acima de 5% indicam um inadequado processamento de grãos usados em alimentos ricos em amido na dieta (OWENS; SODERLUND, 2007). Sendo uma justificativa para tal que o processamento dos grãos de milho na confecção das silagens de grãos, assim como a ação da protease obtida a partir do *Bacillus licheniformis*, tem efeito na fragilização da matriz proteica formada pela zeína, altamente presente no endosperma do grão de milho do tipo vítreo.

As quantidades assim como os teores de Gordura e Proteína do leite produzido foram maiores para os animais alimentados com SGUP (Tabela 5), o que pode ser associado a maior produção de ácidos graxos voláteis e proteína microbiana pela flora ruminal, em função da maior disponibilidade do amido ingerido pelas vacas. O impacto do processamento do grão na gordura do leite é inconsistente na literatura. Maior teor de gordura no leite das vacas alimentadas com silagens de milho com grãos processados (DHIMAN et al., 2000). Assim como maior teor de gordura do leite, foi observado para silagens de planta de milho com grãos não processados, quando comparadas às silagens com grãos processados (FERRARETTO; SHAVER, 2012).

Os teores de nitrogênio ureico do leite foram menores para os animais alimentados com as dietas que receberam as silagens de grãos de milho reidratado (Tabela 5). O aumento da fermentação do amido no rúmen resultou em aumento da síntese de proteína microbiana, que foi associada a uma maior síntese de proteínas pela glândula mamária (THEURER et al., 1999). Entre as dietas, o NUL de vacas alimentadas com a dieta CON obteve um valor mais alto ( $12,78 \text{ mg dL}^{-1}$ ) quando comparado a média das dietas com silagem de grãos de milho reidratado ( $10,63 \text{ mg dL}^{-1}$ ) o que é explicado pela menor energia liberada no rúmen, que limita o uso do nitrogênio produzido na fermentação ruminal e ocasiona o aumento na absorção de amônia (GRANT, 2005). Os resultados do NUL menor para os tratamentos SGUP e SGU, juntamente com os menores valores de nitrogênio ureico no plasma para as dietas SGUP e SGU (Tabela 7), mostra que o processo de ensilagem pode estar criando um melhor padrão de fermentação para aproveitamento do nitrogênio disponível, resultado que também valida a hipótese deste trabalho.

O aumento do fornecimento de carboidratos não estruturais, com elevados teores de amido, pode diminuir o pH ruminal e a eficiência de síntese microbiana, ao mesmo tempo que a falta de carboidratos com taxa de fermentação mais rápida reduz o nível de energia disponível para o crescimento bacteriano (CLARK; KLUSMEYER; CAMERON, 1992). Redução de  $1,2 \text{ mg dL}^{-1}$  foi observada para silagens com grãos processados (SCHWAB et al., 2002). O aumento da digestibilidade do amido no rúmen pode afetar o pH e a produção de ácidos graxos voláteis do rúmen (FERRARETTO; SHAVER, 2012). Maiores concentrações de propionato ruminal, que afetou a relação acetato/propionato, foram relatadas para vacas em lactação alimentadas com silagens de milho com grãos processados (DHIMAN et al., 2000; SCHWAB et al., 2002).

Diversos fatores interferem na digestão do amido pelos ruminantes, alterando a dinâmica e a quantidade de amido que será fermentado no rúmen ou que chegará ao intestino (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006). Fatores tais como maturidade na colheita, teor de umidade, tipo de endosperma, tamanho da partícula, método do armazenamento, duração da fermentação do silo afetam a digestibilidade do amido (HOFFMAN et al., 2011; LOPES et al., 2009). A digestibilidade total do amido de vacas em lactação pode variar de 70 a 100% (FERRARETTO; CRUMP; SHAVER, 2013; FIRKINS et al., 2001). Valores de digestibilidade total do amido próximos a 95% são considerados adequados, sendo ideais os valores acima de 98% (IRELAND-PERRY; STALLINGS, 1993; WHEELER; NOLLER, 1977). Os valores encontrados para digestibilidade total do amido para SGUP (95,30%) foi superior ao SGU (94,48%) que também foi superior ao CON (92,54%).

A glicose plasmática foi maior para os animais que receberam as dietas com as silagens de grão de milho reidratado (Tabela 7), fato que ajuda a validar a hipótese deste trabalho. A concentração de glicose presente no plasma é refletida pela produção dos precursores da glicose, como o propionato ruminal (VLAEMINCK et al., 2006), assim como pela absorção duodenal de glicose (NOCEK; TAMMINGA, 1991). O estímulo da síntese de lactose e o conseqüente aumento da produção de leite, está vinculado ao aumento da concentração da glicose plasmática (COOKE; BERNARD, 2005).

Os ácidos graxos do leite com cadeias carbônicas C15:1, C16:0 e C20:0, classificados como cadeias carbônicas média e longa, tiveram aumento para os

animais alimentados com as dietas com inclusão da silagem de grãos de milho reidratado e protease quando comparado ao controle. Os ácidos graxos lácteos saturados, de cadeia com 18 ou mais carbonos são originados da dieta, dos quais se destaca o ácido esteárico, que normalmente apresenta os teores mais elevados no leite (RIBEIRO et al., 2014). Observa-se uma relação positiva entre a concentração de ácidos graxos não esterificados no sangue e ácidos graxos de 18 carbonos no leite de bovinos, demonstrando que vacas que possuem maior lipomobilização apresentam maior proporção de ácidos graxos de 18 carbonos no leite (JORJONG et al., 2014). Ácidos graxos de cadeia longa, na faixa de 18 a 20 carbonos chegam para a glândula mamária através do plasma e têm origem na dieta ou na síntese de ácidos graxos feita pelo tecido adiposo do bovino e podem representar 55% dos ácidos graxos presentes no leite (PEREIRA et al., 2004).

O aumento na produtividade dos animais alimentados com silagem de grãos de milho reidratado e com a adição de protease, pode ser justificado pela melhor eficiência da digestibilidade do trato digestório destes animais, sendo a menor concentração de amido fecal uma comprovação, assim como a redução do NUL do leite, aumento da concentração de glicose no plasma e o aumento dos ácidos graxos do leite de cadeia carbônica longa.

## **9 CONCLUSÃO:**

A utilização de silagem de grão de milho reidratado com adição de protease melhora o desempenho produtivo de vacas em lactação, pela melhor degradabilidade do amido, recomendando-se desta forma a substituição do grão de milho moído seco pela silagem de grão de milho reidratado com adição de protease.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMILHO, - Associação Brasileira das Indústrias do Milho. **O cereal que enriquece a alimentação humana.** 2019. Disponível em: <<http://www.abimilho.com.br/milho/cereal>>. Acesso em: 1 mar. 2022.

ABIMILHO, - Associação Brasileira das Indústrias do Milho. **Estatísticas.** 2021. Disponível em: <<http://www.abimilho.com.br/estatisticas>>. Acesso em: 1 mar. 2022.

ABREU, B. A. et al. Variação da medida torácica obtida com a fita métrica tradicional com fator de correção e com a fita de pesagem para bovinos. **Acta Biomédica Brasiliensia**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 42, 2015. Disponível em: <<http://www.actabiomedica.com.br/index.php/acta/article/view/19>>

AEHLE, E. et al. Development and evaluation of an enriched natural antioxidant preparation obtained from aqueous spinach (*Spinacia oleracea*) extracts by an adsorption procedure. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 86, n. 4, p. 579–585, 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814603005338>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

ALMEIDA JÚNIOR, G. A. De et al. Qualidade da carne de cordeiros criados em creep feeding com silagem de grãos úmidos de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 1039–1047, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rbz/a/z6cxVmvf9HBK7cxp58Pb4Zz/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

ANDRADE FILHO, R. et al. Degradabilidade ruminal in situ de grãos de milho maduros do tipo finto ou dentado, secos ou reconstituídos e ensilados. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Salvador, 2010.

ANTUNES, C. R. et al. Perfil lipídico do queijo e do leite de vacas alimentadas com casca de banana. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1–9, 2018. Disponível em: <<http://www.agraria.pro.br/ojs32/index.php/RBCA/article/view/v13i1a5496>>

AOAC. **AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis.** [s.l.] : Oxford Academic, 2002. v. 85Feldsine, PhilipAbeyta, CarlosAndrews, Wallace H. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jaoac/article/85/5/1187/5656729>>. Acesso em: 6 mar. 2022.

ARCARI, M. A. et al. Effect of the ensiling time of hydrated ground corn on silage composition and in situ starch degradability. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 60, 2016. a. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/97794>>

ARCARI, M. A. et al. Effect of substituting dry corn with rehydrated ensiled corn on dairy cow milk yield and nutrient digestibility. **Animal Feed Science and Technology**,

[s. l.], v. 221, p. 167–173, 2016. b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840116304631>>

AWASTI, N.; ANAND, S.; DJIRA, G. Sporulating behavior of *Bacillus licheniformis* strains influences their population dynamics during raw milk holding. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 102, n. 7, p. 6001–6012, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2018-15613>>

BARBOSA, D. P. **Silagem de milho grão reidratado submetido a níveis crescentes de pepsina aberto em diferentes tempos**. 2021. Universidade Federal do Amazonas, [s. l.], 2021.

BATISTA, J. D. O. et al. Effects of amylase and glucoamylase on rehydrated corn ensiled for an extended period: nutritive value, fermentation profile, and amylolytic activity. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–14, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00288233.2021.1945638>>

BAUMAN, D. E. et al. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 89, n. 4, p. 1235–1243, 2006. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72192-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72192-0)>

BENINI, M. de C. et al. Avaliação química da silagem de grão de milho reidratado em diferentes níveis de adição de água. **Pubvet**, [s. l.], v. 14, n. 7, p. 1–6, 2020. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/artigo/6804/avaliaccedilatildeo-quiacutemica-dasilagem-de-gratildeo-de-milho-reidratado-em-diferentes-niacuteveis-de-adiccedilatildeo-de-aacuteagua>>

BENTON, J. R.; KLOPFENSTEIN, T. J.; ERICKSON, G. E. Effects of corn moisture and length of ensiling on dry matter digestibility and rumen degradable protein. **Nebraska Beef Cattle Reports**, [s. l.], n. January, p. 31–33, 2005. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/animalscincbcr/151>>

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. A.; OLIVEIRA, S. . **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FAPESP, 2006.

BERNDT, A. et al. Milho úmido, bagaço de cana e silagem de milho em dietas de alto teor de concentrado: 2. composição corporal e taxas de deposição dos tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 31, n. 5, p. 2105–2112, 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982002000800026&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982002000800026&lng=pt&tlng=pt)>

BIAGGIONI, M. A. M. et al. Qualidade da silagem de grão úmido em função da temperatura ambiente e pressão interna de armazenagem. **Acta Scientiarum. Agronomy**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 377–382, 2009. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/325>>

BIAZUS, V. **Rendimento, valor nutritivo e características fermentativas de silagens de grãos úmidos de cereais de inverno**. 2018. Universidade de Passo

Fundo, [s. l.], 2018.

BITTENCOURT, T. M. et al. Distillers dried grains with solubles from corn in diet of Japanese quails. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 1–7, 2019.

BRODERICK, G. A. Effects of Varying Dietary Protein and Energy Levels on the Production of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 86, n. 4, p. 1370–1381, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73721-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73721-7)>

BURNS, R. G. The biochemistry of silage. **Trends in Biochemical Sciences**, Kingston, v. 7, n. 3, p. 120, 1982. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0968000482901700>>

CAMARGO, A. C. De et al. **Fazenda Nata da Serra Serra Negra , SP**. 1. ed. Brasília: Embrapa Pecuária Sudeste, 2020.

CARMO, A. A. Do et al. Enzimas amilolíticas em silagem de grão úmido de milho reidratado: consumo de matéria seca e nutrientes. **Anais Zootec 2018**, Goiânia, 2018.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives -an overview of the technical details**. [s.l.] : Rowett Research Institute, 1992.

CHOCT, M. et al. Microstructure of grains as an indicator of nutritive value. **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**, [s. l.], v. 13, p. 223–228, 2001.

CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial Protein Synthesis and Flows of Nitrogen Fractions to the Duodenum of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 75, n. 8, p. 2304–2323, 1992. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77992-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77992-2)>

CONAB, - Companhia Nacional de Abastecimento. **Conab - Histórico semanal milho**. 2021. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-de-conjunturas-de-milho>>. Acesso em: 1 mar. 2022.

CONTESINI, F. J.; MELO, R. R. De; SATO, H. H. An overview of Bacillus proteases: from production to application. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 321–334, 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07388551.2017.1354354>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

COOKE, K. M.; BERNARD, J. K. Effect of Length of Cut and Kernel Processing on Use of Corn Silage by Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 88, n. 1, p. 310–316, 2005. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72689-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72689-8)>

CRUZ, G. M. de A. et al. Avaliação do consumo e comportamento de bezerras da raça holandesa alimentadas com grão de milho (*Zea mays* L.) moído reidratado e ensilado. **Pubvet**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1–6, 2019. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/artigo/6052/avaliaccedilatildeo-do-consumo-e-comportamento-de-bezerras-da-raccedila-holandesa-alimentadas-com-gratildeo-de-milho-zea-mays-l-moiacutedo-reidrarado-e-ensilado>>

CURADO, P. H. C. F. **Efeito da adição de amiloglucosidade e pepsina ao longo do tempo de ensilagem do milho grão moído e reidratado**. 2020. Universidade Federal do Amazonas, [s. l.], 2020.

DE LIMA, G. J. M. M.; WALTRICK DE SOUZA, O. Importância da qualidade de grãos na produção de suínos. **cnpsa.embrapa.br**, [s. l.], 2002. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais0205\\_lima.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais0205_lima.pdf)>. Acesso em: 2 mar. 2022.

DEL VALLE, T. A. et al. Whole corn grain addition in sugarcane silage avoids fermentative losses and improves in situ degradation of silage. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 493–501, 2019. Disponível em: <<http://tropicalgrasslands.info/index.php/tgft/article/view/477>>

DELCOUR, J. A.; HOSENEY, R. C. **Principles of Cereal Science and Technology**. 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.: AACC International, Inc., 2010. Disponível em: <[https://limo.libis.be/primo-explore/fulldisplay?docid=LIRIAS1758471&context=L&vid=Lirias&search\\_scope=Lirias&tab=default\\_tab&fromSitemap=1](https://limo.libis.be/primo-explore/fulldisplay?docid=LIRIAS1758471&context=L&vid=Lirias&search_scope=Lirias&tab=default_tab&fromSitemap=1)>. Acesso em: 2 mar. 2022.

DEMARQUILLY, C. et al. Bases rationnelles de l'alimentation des ruminants. **INRA Productions Animales**, [s. l.], p. 71–80, 1996.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 593–607, 1999. Disponível em: <[https://www.cambridge.org/core/product/identifield/S0029665199000786/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifield/S0029665199000786/type/journal_article)>

DER BEDROSIAN, M. C.; KUNG, L. The effect of various doses of an exogenous acid protease on the fermentation and nutritive value of corn silage. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 102, n. 12, p. 10925–10933, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-16436>>

DHIMAN, T. R. et al. Influence of Mechanical Processing on Utilization of Corn Silage by Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 83, n. 11, p. 2521–2528, 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75144-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75144-7)>

DUQUE, A. C. A. et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo ou não glicerina bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 243–252, 2020. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352020000100243&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352020000100243&tlng=pt)>

FAUSTINO, T. F. et al. USE OF SILAGE OF REHYDRATED SORGHUM GRAIN IN THE ANIMAL FEEDING. **Nucleus Animalium**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 47–60, 2018. Disponível em: <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6814723>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

FAUSTINO, T. F. et al. UTILIZAÇÃO DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO E CASCA DE CAFÉ NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Revista Científica Rural**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 259–275, 2020. Disponível em: <<http://revista.urcamp.tche.br/index.php/RCR/article/view/371>>

FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; THOMSEN, N. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 77, n. 9, p. 2695–2703, 1994. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77212-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77212-X)>

FERRARETTO, L. F. et al. Relationships between dry matter content, ensiling, ammonia-nitrogen, and ruminal in vitro starch digestibility in high-moisture corn samples. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 97, n. 5, p. 3221–3227, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7680>>

FERRARETTO, L. F.; CRUMP, P. M.; SHAVER, R. D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 96, n. 1, p. 533–550, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5932>>

FERRARETTO, L. F.; CRUMP, P. M.; SHAVER, R. D. Effect of ensiling time and exogenous protease addition to whole-plant corn silage of various hybrids, maturities, and chop lengths on nitrogen fractions and ruminal in vitro starch digestibility. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 98, n. 12, p. 8869–8881, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9511>>

FERRARETTO, L. F.; FREDIN, S. M.; SHAVER, R. D. Influence of ensiling, exogenous protease addition, and bacterial inoculation on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal in vitro starch digestibility in rehydrated and high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 98, n. 10, p. 7318–7327, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9891>>

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D. Meta-analysis: Effect of corn silage harvest practices on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **The Professional Animal Scientist**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 141–149, 2012. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30334-X](http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30334-X)>

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting.



**Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 101, n. 5, p. 3937–3951, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13728>>

FERRERO, F. et al. Effects of conservation period and *Lactobacillus hilgardii* inoculum on the fermentation profile and aerobic stability of whole corn and sorghum silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 99, n. 5, p. 2530–2540, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.9463>>

FIRKINS, J. L. et al. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 79, n. E-Suppl, p. E218, 2001. Disponível em: <[https://academic.oup.com/jas/article/79/suppl\\_E/E218-E238/4626039](https://academic.oup.com/jas/article/79/suppl_E/E218-E238/4626039)>

FREDIN, S. M. et al. Fecal starch as an indicator of total-tract starch digestibility by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 97, n. 3, p. 1862–1871, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7395>>

FREITAS, J. S. **Valor nutritivo das silagens de grão de milho reidratado com diferentes texturas de endosperma e inoculantes**. 2022. Universidade Federal do Tocantins, [s. l.], 2022.

FUJIHARA, T. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **The Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 109, n. 1, p. 7–12, 1987. Disponível em: <[https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0021859600080916/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0021859600080916/type/journal_article)>

GALINAT, W. C. The Origin of Maize. **The Classical Review**, [s. l.], v. 3, n. 3–4, p. 447–478, 1971. Disponível em: <[https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0009840X00995799/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0009840X00995799/type/journal_article)>

GALYEAN, M. L.; LEE, R. W.; HUBBERT, M. E. Influence of Fasting and Transit on Ruminal and Blood Metabolites in Beef Steers. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 7–18, 1981. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/53/1/7/4661868>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

GANDRA, J. R. S. et al. Amylolytic activity and chemical composition of rehydrated ground maize ensiled with  $\alpha$ -amylase or glucoamylase. **The Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 157, n. 5, p. 449–455, 2019. Disponível em: <[https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0021859619000698/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0021859619000698/type/journal_article)>

GIUBERTI, G. et al. Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. **Starch - Stärke**, [s. l.], v. 66, n. 1–2, p. 72–90, 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/star.201300177>>

GONZÁLEZ, F. H. D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. **Uso**

**do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**, Porto Alegre, p. 5–21, 2001.

GRANT, R. Optimizing Starch Concentrations in Dairy Rations. **Tri-State Dairy Nutrition Conference**, New York, n. 518, p. 73–79, 2005. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/dbff/5d797a9a4f68e12a73425f69b719a5937a9b.pdf>>

HEINRICHS, J. The Penn State Particle Separator. **DSE - Penn State Extension**, [s. l.], v. 186, p. 1–8, 2013.

HENDRIX, D. L. Rapid Extraction and Analysis of Nonstructural Carbohydrates In Plant-Tissues. *Crop Science*, v. 33, p. 1306–1311, 1993.

HIBBERD, C. A. et al. Effect of sorghum grain variety and reconstitution on site and extent of starch and protein digestion in steers. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 702–712, 1985. a.

HIBBERD, C. A. et al. Effect of sorghum grain variety and reconstitution on site and extent of starch and protein digestion in steers. **Journal of animal science**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 702–712, 1985. b.

HOFFMAN, P. C. et al. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 94, n. 5, p. 2465–2474, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3562>>

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 75, n. 3, p. 852, 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/75/3/852-867/4637334>>

IRELAND-PERRY, R. L.; STALLINGS, C. C. Fecal Consistency as Related to Dietary Composition in Lactating Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 76, n. 4, p. 1074–1082, 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030293774366>>

ÍTAVO, C. C. B. F. et al. Padrão de fermentação e composição química de silagens de grãos úmidos de milho e sorgo submetidas ou não a inoculação microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 655–664, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982006000300005&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982006000300005&lng=pt&tlng=pt)>

JANICK-BUCKNER, D. Biochemical and ultrastructural analysis of the y10 mutant of maize. **Journal of Heredity**, [s. l.], v. 90, n. 5, p. 507–513, 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jhered/article-lookup/doi/10.1093/jhered/90.5.507>>

JOBIM, C. C.; BRANCO, A. F.; SANTOS, G. T. Dos. Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos leiteiros. **V Simpósio Goiano sobre Manejo e Nutrição de Bovinos de Corte e Leite**, Goiânia, p. 357–376, 2003.

JOBIM, C. C.; REIS, R. A.; RODRIGUES, L. R. D. Avaliação da silagem de grãos úmidos de milho. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 311–315, 1997.

JORJONG, S. et al. Milk fatty acids as possible biomarkers to early diagnose elevated concentrations of blood plasma nonesterified fatty acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 97, n. 11, p. 7054–7064, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8039>>

JUNGES, D. et al. Short communication: Influence of various proteolytic sources during fermentation of reconstituted corn grain silages. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 100, n. 11, p. 9048–9051, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12943>>

KESEK, M.; SZULC, T.; ZIELAK-STECIWKO, A. Genetic, physiological and nutritive factors affecting the Fatty Acid profile in cows' milk - A review. **Animal Science Papers and Reports**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 95–105, 2014.

KIYOTA, N. et al. **Silagem de milho na atividade leiteira do sudoeste do Paraná: do manejo de solo e de seus nutrientes à ensilagem de planta inteira e grãos úmidos**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2011.

KLJAK, K.; DUVNJAK, M.; GRBEŠA, D. Contribution of zein content and starch characteristics to vitreousness of commercial maize hybrids. **Journal of Cereal Science**, [s. l.], v. 80, p. 57–62, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521017308159>>

KNUDSEN, K. E. B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 319–338, 1997. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840197000096>>. Acesso em: 6 mar. 2022.

KOZLOSKI, V. G. **Metabolismo microbiano ruminal**. 3. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2011.

KUNG, L.; WINDLE, M. C.; WALKER, N. The effect of an exogenous protease on the fermentation and nutritive value of high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 97, n. 3, p. 1707–1712, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7469>>

LADELY, S. R. et al. Effect of corn hybrid and grain processing method on rate of starch disappearance and performance of finishing cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 73, n. 2, p. 360–364, 1995. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/73/2/360-364/4718907>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

LAO, F.; SIGURDSON, G. T.; GIUSTI, M. M. Health Benefits of Purple Corn ( *Zea*

mays L.) Phenolic Compounds. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 234–246, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12249>>

LARA, E. C. et al. Inoculation of corn silage with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* associated with amylolytic enzyme supply at feeding. 1. Feed intake, apparent digestibility, and microbial protein synthesis in wethers. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 243, n. January, p. 22–34, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.004>>

LARKINS, B. A.; LENDING, C. R.; WALLACE, J. C. Modification of maize-seed-protein quality. **American Society for Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 58, p. 264–269, 1993.

LARSON, J.; HOFFMAN, P. C. Technical Note: A Method to Quantify Prolamin Proteins in Corn That Are Negatively Related to Starch Digestibility in Ruminants. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 91, n. 12, p. 4834–4839, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1378>>

LEE, P. C. et al. Succinic acid production by *Anaerobiospirillum succiniciproducens*: effects of the H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> supply and glucose concentration. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 24, n. 8–9, p. 549–554, 1999. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141022998001562>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

LOPES, J. C. et al. Type of corn endosperm influences nutrient digestibility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 92, n. 9, p. 4541–4548, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2090>>

MACHADO, R. D. **Universidade Federal Do Paraná Ricardo Dinarti Machado**. 2019. Universidade Federal do Paraná, [s. l.], 2019.

MAIA, L. M. S. de S.; SANTOS, Â. A. Dos. Alimentos E Suas Ações Em Sistemas Fisiológicos. **Veredas FAVIP**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 24–34, 2009.

MAPA, - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa MAPA nº 60 de 22/12/2011**. 2011. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=78895>>. Acesso em: 1 mar. 2022.

MELE, M. et al. Multivariate factor analysis of detailed milk fatty acid profile: Effects of dairy system, feeding, herd, parity, and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 99, n. 12, p. 9820–9833, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11451>>

MENDES, I. A. P. **Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite de vacas alimentadas com silagem de grão de milho moído reidratado substituindo milho seco moído do concentrado**. 2013. Universidade Federal de Minas Gerais, [s. l.], 2013.

MENEZES, B. B. De et al. Características Estruturais Do Grão De Milho Sobre a

Digestibilidade Do Amido Em Bovinos. **Anais da X Mostra científica FAMEZ/ UFMS, Campo Grande, 2017**, [s. l.], p. 155–163, 2017.

MITTELMANN, A. **Variação genética para qualidade nutricional em milho com endosperma normal**. 2001. Universidade de São Paulo, [s. l.], 2001.

MOMBACH, M. A. et al. Silage of rehydrated corn grain. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 959–966, 2019. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352019000300959&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352019000300959&tlng=en)>

MORAIS, M. da G. et al. Inoculação de silagens de grãos úmidos de milho, em diferentes processamentos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 969–981, 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-99402012000400002&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-99402012000400002&lng=pt&tlng=pt)>

MOVALIYA, J. K. et al. Nutritional strategy for designer milk with fat constituents beneficial for human health – A review. **Agricultural Reviews**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 42, 2014. Disponível em: <<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ar&volume=35&issue=1&article=005>>

MUCK, R. E. Potential of Energy Production from Conserved Forages. **Simpósio internacional sobre qualidade e conservação de forragens**, Piracicaba, v. 2, n. 9, p. 827–835, 2011. 9.

MUCK, R. E. et al. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13839>>

NAIDU, K. S. Characterization and purification of protease enzyme. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 107–112, 2011.

NAIR, J. et al. Effects of inoculation of corn silage with *Lactobacillus hilgardii* and *Lactobacillus buchneri* on silage quality, aerobic stability, nutrient digestibility, and growth performance of growing beef cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 98, n. 10, p. 1–41, 2020. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/doi/10.1093/jas/skaa267/5895243>>

NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of Digestion of Starch in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows and Its Effect on Milk Yield and Composition. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 74, n. 10, p. 3598–3629, 1991. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78552-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78552-4)>

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2001. Disponível em: <<http://www.nap.edu/catalog/9825>>

NUNES, F. C. et al. Uso de milho processado em dietas de ruminantes: revisão. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. e188963674, 2020. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3674>>

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of Diet Fermentability on Efficiency of Microbial Nitrogen Production in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 86, n. 1, p. 195–207, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73600-5](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73600-5)>

OLIVEIRA, E. R. et al. Effects of exogenous amylolytic enzymes on fermentation, nutritive value, and in vivo digestibility of rehydrated corn silage. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 251, n. November 2018, p. 86–95, 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840118314342>>

OWENS, F. N. et al. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: a review. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 75, n. 3, p. 868, 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/75/3/868/4637335>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

OWENS, F.; SODERLUND, S. Ruminant and post-ruminal starch digestion by cattle. **Pioneer Hi-Bred, a DuPont Business**, [s. l.], p. 1–23, 2007.

PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnologia do grão de milho. Circular Técnica. **Embrapa/Cnpms**, [s. l.], n. 75, p. 1–6, 2006.

PASSINI, R. et al. Digestibilidade de dietas a base de grão úmido de milho ou de sorgo ensilados. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.], v. 24, p. 1147, 2008. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/2604/1759>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

PEREIRA, D. S. M. **Efeito do tempo de armazenamento da ensilagem do grão de milho reidratado acrescida com enzima amilolítica : ensilagem do grão de milho reidratado acrescida com enzima amilolítica : valor nutricional**. 2020. Universidade Federal da Grande Dourados, [s. l.], 2020.

PEREIRA, K. A. et al. Aspectos nutricionais e confecção de silagem de grão úmido de milho para a alimentação de bovinos: revisão de literatura. **Nutritime Revista Eletrônica**, Viçosa, v. 14, n. 1, p. 4944–4953, 2017.

PEREIRA, K. A. et al. Parâmetros na utilização de silagem de grão úmido de milho na bovinocultura de corte. **Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/622>>

PEREIRA, M. N. et al. Ruminant degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 61, n. 4, p. 358–363, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-)

90162004000400002&lng=en&tlng=en>

PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 80, n. 3, p. 404–408, 2000. Disponível em: <[https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0010\(200002\)80:3%3C404::AID-JSFA541%3E3.0.CO;2-Z](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0010(200002)80:3%3C404::AID-JSFA541%3E3.0.CO;2-Z)>

PINTO, A. P. et al. Avaliação de doze cultivares de milho (*Zea mays* L.) para silagem. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 1071, 2010. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2024>>

PONCHEKI, J. K. **Beta-Hidroxibutirato E Perfil De Ácidos Graxos Do Leite Bovino No Início Da Lactação: Efeitos Sobre Produção, Reprodução E Sanidade**. 2019. Universidade Federal do Paraná, [s. l.], 2019.

PRIOR, R. L. Lipogenesis and Adipose Tissue Cellularity in Steers Switched from Alfalfa Hay to High Concentrate Diets. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 483–492, 1983. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/56/2/483-492/4682952>>

QAMAR, S. A.; ASGHER, M.; BILAL, M. Immobilization of Alkaline Protease From *Bacillus brevis* Using Ca-Alginate Entrapment Strategy for Improved Catalytic Stability, Silver Recovery, and Dehairing Potentialities. **Catalysis Letters**, [s. l.], v. 150, n. 12, p. 3572–3583, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10562-020-03268-y>>

RAO, M. B. et al. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. **MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS**, [s. l.], v. 62, n. 3, p. 597–635, 1998.

REIS, C. B. et al. Wild *Lactobacillus hilgardii* (CCMA 0170) strain modifies the fermentation profile and aerobic stability of corn silage. **Journal of Applied Animal Research**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 632–638, 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09712119.2017.1371609>>

REIS, W. Dos et al. Características da Carcaça de Cordeiros Alimentados com Dietas Contendo Grãos de Milho Conservados em Diferentes Formas. [s. l.], v. 30, n. 4, p. 1308–1315, 2001.

REIS, G. de A. **Processamento mecânico da fração de grãos como estratégia de aumento da inclusão de silagem de milho em dietas de vacas leiteiras**. 2021. Universidade de São Paulo, [s. l.], 2021.

RENNÓ, F. P. et al. Eficiência bioeconômica de vacas de diferentes níveis de produção de leite por lactação e estratégias de alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 765–772, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982008000400024&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982008000400024&lng=pt&tlng=pt)>

RIBEIRO, C. G. S. et al. Desempenho produtivo e perfil de ácidos graxos do leite de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de girassol em dietas à base de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 66, n. 5, p. 1513–1521, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/abmvz/a/BVMV5cKtCFRcddxtjMnYS8F/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

ROSEIRA, J. P. S. **Silagens de sorgo tratadas com cepas autóctones de lactobacillus buchneri e uso de protease exógena em grãos de milho e sorgo reidratados e ensilados**. 2019. Universidade Federal de Viçosa, [s. l.], 2019.

SAN EMETERIO, F. et al. Effect of Coarse or Fine Grinding on Utilization of Dry or Ensiled Corn by Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 83, n. 12, p. 2839–2848, 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75184-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75184-8)>

SANTOS, F. A. P. et al. Milk Yield and Composition of Lactating Cows Fed Steam-Flaked Sorghum and Graded Concentrations of Ruminally Degradable Protein. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 81, n. 1, p. 215–220, 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030298755687>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

SANTOS, J. P. **Controle de pragas durante o armazenamento de milho**, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006.

SAS. **STAT Statistical Software**, SAS Institute Inc., 2004.

SAYLOR, B. A. et al. Effect of microbial inoculation and particle size on fermentation profile, aerobic stability, and ruminal in situ starch degradation of high-moisture corn ensiled for a short period. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 103, n. 1, p. 379–395, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-16831>>

SCHWAB, E. C. et al. Processing and Chop Length Effects in Brown-Midrib Corn Silage on Intake, Digestion, and Milk Production by Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 613–623, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74115-5](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74115-5)>

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo, 1996. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ses-17036>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 171–192, 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669000000649>>

SILVA, G. M. Da et al. Fatores anti qualitativos em silagens: Revisão. **Medicina**



**Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 502–510, 2015. Disponível em: <[www.pubvet.com.br](http://www.pubvet.com.br)>

SILVA, M. R. H. Da et al. <b>Corn grain processing improves chemical composition and fermentative profile of rehydrated silage. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 42564, 2018. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/42564>>

STOCK, R. A. et al. Feeding Combinations of High Moisture Corn and Dry-Rolled Grain Sorghum to Finishing Steers. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 290–302, 1987. a. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/65/1/290-302/4662385>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

STOCK, R. A. et al. Feeding Combinations of High Moisture Corn and Dry Corn to Finishing Cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 282–289, 1987. b. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/65/1/282-289/4662383>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

STOCK, R. A. et al. High-moisture corn utilization in finishing cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 1645, 1991. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/69/4/1645-1656/4705635>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

STOOP, W. M. et al. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 92, n. 4, p. 1469–1478, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1468>>

STREETER, M. N. et al. Combinations of High-Moisture Harvested Sorghum Grain and Dry-Rolled Corn: Effects on Site and Extent of Digestion in Beef Heifers. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 67, n. 6, p. 1623, 1989. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/67/6/1623-1633/4631707>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

THEURER, C. B. et al. Invited Review: Summary of Steam-Flaking Corn or Sorghum Grain for Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 82, n. 9, p. 1950–1959, 1999.

USDA, - United States Department of Agriculture. **USDA - National Agricultural Statistics Service - Statistics by Subject Results**. 2018. Disponível em: <[https://www.nass.usda.gov/Statistics\\_by\\_Subject/result.php?25B26A15-F564-328B-9E4B-5A1E2A119268&sector=PLANTAÇÕES&group=CULTURAS DE CAMPO&comm=MILHO](https://www.nass.usda.gov/Statistics_by_Subject/result.php?25B26A15-F564-328B-9E4B-5A1E2A119268&sector=PLANTAÇÕES&group=CULTURAS DE CAMPO&comm=MILHO)>. Acesso em: 2 mar. 2022.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)>

VILLOT, C. et al. Combinations of non-invasive indicators to detect dairy cows submitted to high-starch-diet challenge. **Animal**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 388–398, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751731119001629>>

VLAEMINCK, B. et al. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 131, n. 3–4, p. 389–417, 2006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840106002707>>

VYAS, D.; TETER, B. B.; ERDMAN, R. A. Milk fat responses to dietary supplementation of short- and medium-chain fatty acids in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 95, n. 9, p. 5194–5202, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-5277>>

WANG, K. et al. Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: Effect of pH. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 161, p. 395–401, 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852414003939>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

WHEELER, W. E.; NOLLER, C. H. Gastrointestinal tract pH and starch in feces of ruminants. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 131–135, 1977.

WILKERSON, V. A.; GLENN, B. P.; MCLEOD, K. R. Energy and Nitrogen Balance in Lactating Cows Fed Diets Containing Dry or High Moisture Corn in Either Rolled or Ground Form. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 80, n. 10, p. 2487–2496, 1997. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76201-5](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76201-5)>

WINDLE, M. C.; WALKER, N.; KUNG, L. Effects of an exogenous protease on the fermentation and nutritive value of corn silage harvested at different dry matter contents and ensiled for various lengths of time. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 97, n. 5, p. 3053–3060, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7586>>

YOUNG, K. M. et al. Effect of exogenous protease enzymes on the fermentation and nutritive value of corn silage. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 95, n. 11, p. 6687–6694, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5628>>

YU, P. et al. Effects of Ground, Steam-Flaked, and Steam-Rolled Corn Grains on Performance of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 81, n. 3, p. 777–783, 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030298756346>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

**TOPICO II**  
**ARTIGO A SER SUBMETIDO A:**  
**REVISTA BRASILEIRA DE MEDICINA VETERINÁRIA**

Normas da Revista:  
<https://rbmv.org/BJVM/preparation>

## DESEMPENHO DE VACAS EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS COM SILAGEM DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO COM ADIÇÃO DE PROTEASE

### RESUMO

A silagem de grão de milho reidratado é uma alternativa que visa a redução do custo para a produção de leite. Objetivou-se por meio deste estudo avaliar o desempenho de vacas em lactação alimentadas com 3 tratamentos sendo: 1 - CON (dieta controle); 2 - SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado); 3 - SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>). Foram avaliadas 24 vacas mestiças suplementadas a pasto. Coletaram-se amostras de leite, sangue, urina e fezes, e a condição de escore corporal aferiu-se nos dias 0, 14, 28, 42 e 56 do período experimental. Foram determinados composição e perfil de ácidos graxos do leite, perfil bioquímico do sangue, síntese de proteínas microbianas e amido fecal. Observou-se a redução dos teores de amido fecal e o conseqüente aumento da produção de leite dos animais alimentados com a silagem de grão de milho reidratado com a adição de protease frente a utilização da silagem de grão de milho reidratado sem a adição de protease e frente a utilização de grão de milho seco, concluindo-se que a adição de protease, assim como o processo de ensilagem do milho reidratado pode melhorar o desempenho de vacas em lactação.

**Palavras-chave:** Enzimas exógenas, grão úmido, leite, nutrição, ruminantes.

### ABSTRACT

Rehydrated corn grain silage is an alternative that aims to reduce the cost of milk production. The objective of this study was to evaluate the performance of lactating cows fed with 3 treatments: 1 - CON (control diet); 2 - SGU (diet with total replacement of ground corn by rehydrated corn grain silage); 3 - SGUP (diet with total replacement of ground corn by rehydrated corn grain silage + 500 g ton<sup>-1</sup> of CINBENZA DP100® enzymatic extract of *Bacillus licheniformis*, protease activity 600 IU g<sup>-1</sup>). Twenty-four crossbred cows supplemented with pasture were evaluated. Milk, blood, urine and feces samples were collected, and the body score

condition was measured on days 0, 14, 28, 42 and 56 of the experimental period. Milk fatty acid composition and profile, blood biochemical profile, microbial protein synthesis and fecal starch were determined. There was a reduction in fecal starch levels and a consequent increase in milk production of animals fed with rehydrated corn grain silage with the addition of protease against the use of rehydrated corn grain silage without the addition of protease and against the use of dry corn grain, concluding that the addition of protease, as well as the silage process of rehydrated corn can improve the performance of lactating cows.

**Keywords:** Exogenous enzymes, wet grain, milk, nutrition, ruminant.

## INTRODUÇÃO

O milho (*Zea Mays*) é um dos cereais mais cultivados no mundo, pois suas sementes possuem alto valor nutricional e econômico, visto suas várias formas de utilização, que vão desde a alimentação animal e humana à produção de polímeros (PAES, 2006). Em função do melhoramento genético da planta de milho, a maioria das cultivares de milho utilizadas no Brasil, são variedades híbridas, que possuem a predominância do endosperma do tipo vítreo, sendo classificado tipo como grãos do tipo “*Flint*” duro (CORREA *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2004).

A digestibilidade do amido é influenciada principalmente pela matriz hidrofóbica amido-proteína que envolvem os grânulos de amido e impede a fixação microbiana da flora ruminal ou a digestão hidrolítica e enzimática no abomaso e intestino delgado (GIUBERTI *et al.*, 2014). O ataque enzimático é dificultado, principalmente no vítreo (LOPES *et al.*, 2009). A parte mais importante dessa matriz hidrofóbica são as prolaminas, que no grão de milho chamadas zeínas, proteínas com alta concentração de prolina (LARSON & HOFFMAN, 2008). A prolina é um aminoácido hidrofóbico, responsável por desenvolver a mesma característica nas proteínas com elevado teor de prolina (LARSON & HOFFMAN, 2008), dificultando o acesso das bactérias ruminais ao amido, uma vez que o rúmen é um ambiente líquido.

Visando melhorar a digestibilidade do milho nas diversas partes do trato digestório, algumas técnicas têm sido adotadas, tais como o processo de ensilagem de grão úmido e a utilização de enzimas na nutrição animal (LOPES, 2016).

A utilização das silagens de grão úmido gradualmente tem se expandido pois além de facilitar o armazenamento de grãos, estudos demonstram que o processo fermentativo da ensilagem aumenta a digestibilidade da matéria seca, principalmente em função do aumento da digestão do amido, que é o principal componente de alguns tipos de grãos como milho e sorgo (JOBIM et al., 1997). Outros autores como Reis et al. (2001) e Berndt et al. (2002) relatam também o aumento da eficiência da conversão alimentar. O fornecimento de grãos com alta umidade em dietas, apresentam maior taxa e rapidez de digestão, tanto *in vitro* como *in vivo*, quando comparados com grãos secos (HIBBERD et al., 1985; STREETER et al., 1989).

As enzimas são compostos catalizadores, elaborados por microrganismos exclusivos, para a metabolização dos nutrientes que estão presentes no meio de cultivo (GASHE, 1992; LEE et al., 1998). O *Bacillus licheniformis* é uma bactéria que dentre as suas diversas aplicações pois também atividade potente como protease e é, portanto, amplamente utilizado em aplicações no processamento de alimentos e rações (AWASTI, et.al, 2019).

Assim este estudo foi realizado sobre a hipótese da melhora do potencial digestivo da silagem do grão de milho reidrato com adição de aditivos enzimáticos proteolíticos obtidos a partir do *Bacillus licheniformis*, considerando que a quebra da matriz proteica formada pela prolaminas (Zeína) aumentaria a disponibilidade e digestibilidade do amido presente na dieta, tendo como finalidade melhorar o desempenho produtivo dos animais e rentabilidade da bovinocultura leiteira.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado em um estabelecimento rural com fins comerciais no município de Icaraíma/PR, de propriedade do Sr. José Carlos Bortoli, entre os meses de janeiro a março de 2021. Foram utilizadas 24 vacas mestiças com peso médio de 529 Kg ( $\pm 254$ ), DEL (Dias em Lactação) de 100,75 ( $\pm 277,25$ ), produção de leite de 18,20 L ( $\pm 12,80$ ) e número de partos de 2,0 ( $\pm 2,0$ ).

O projeto de pesquisa desta dissertação protocolado sob nº 2106091020 foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá, por estar de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas

editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), conforme Anexo I.

As vacas foram divididas de acordo com o grupo de ordenha de 8 animais cada. O primeiro grupo recebeu a dieta CONTROLE (CON), onde a principal fonte energética foi o grão de milho seco, o segundo grupo recebeu a dieta SILAGEM DE GRÃO ÚMIDO (SGU), onde a principal fonte energética foi a silagem de grão úmido de milho reidratado sem adição da protease, e o terceiro grupo recebeu a dieta SILAGEM DE GRÃO ÚMIDO + PROTEASE (SGUP), a qual teve como principal fonte energética a silagem de grão úmido de milho reidratado com adição da protease.

As dietas foram balanceadas de acordo com o NRC 2001, de forma que se mantivessem isoenergéticas e isonitrogenadas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição das dietas e dados bromatológicos dos alimentos.

Ingredientes	Dietas experimentais <sup>1</sup>		
	CON	SGU	SGUP
Mombaça	10,00	10,00	10,00
Silagem de milho	50,00	50,00	50,00
Milho moído	26,00	-	-
Silagem de grão de milho reidratado	-	26,00	-
Silagem de grão de milho reidratado + protease	-	-	26,00
Farelo de soja	11,00	11,00	11,00
Ureia	1,00	1,00	1,00
Núcleo mineral <sup>2</sup>	2,00	2,00	2,00
Composição nutricional (%MS)			
Matéria seca	51,70	49,09	49,13
Matéria orgânica	93,84	95,47	95,46
Proteína bruta	15,10	15,24	15,52
Extrato etéreo	3,81	3,17	3,31
Fibra em detergente neutro	35,63	30,95	31,23
Carboidrato não fibroso	39,29	46,10	45,39
Fibra em detergente ácido	19,90	17,82	17,96
Lignina	3,09	2,45	2,59
Cinzas	6,16	4,53	4,54
NDT <sup>3</sup>	64,59	66,38	66,46
ELL <sup>3</sup> (Mcal/kg MS)	1,44	1,49	1,49

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>). <sup>2</sup>Núcleo mineral (Ca: 110 g kg<sup>-1</sup>; P: 42 g kg<sup>-1</sup>; S: 18 g kg<sup>-1</sup>; Mg: 20 g kg<sup>-1</sup>; Na: 123 g kg<sup>-1</sup>; Co: 14 mg kg<sup>-1</sup>; Cu: 600 mg kg<sup>-1</sup>; Cr: 20 mg kg<sup>-1</sup>; Fe: 1.050 mg kg<sup>-1</sup>; I: 28 mg kg<sup>-1</sup>; Mn: 2.000 mg kg<sup>-1</sup>; Se: 18 mg kg<sup>-1</sup>; Zn: 2.800 mg kg<sup>-1</sup>; Biotina: 80 mg kg<sup>-1</sup>; Vitamina A: 240.000 UI kg<sup>-1</sup>; Vitamina D: 100.000 UI kg<sup>-1</sup>, Vitamina E: 100.000 UI kg<sup>-1</sup>. <sup>3</sup>Calculado de acordo com NRC, 2001.

As coletas de amostras dos alimentos e de material biológico dos animais (sangue, fezes, urina e leite), assim como as avaliações destes, foram realizadas nos dias 0, 14, 28, 42 e 56 do período experimental, sendo os materiais biológicos coletados 4 horas após a alimentação matinal dos animais.

Para determinar a composição dos alimentos foram realizadas análises bromatológicas de amostras dos volumosos (pastagem e silagem de milho) e de amostras das silagens de grão úmido de milho reidratado com e sem adição de protease, que foram coletadas e congeladas a  $-10^{\circ}\text{C}$  para posterior processamento. Estas amostras foram secas a  $60^{\circ}\text{C}$  por 72 h, moídas em peneira de 1 mm em moinho Willey, na sequência as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) na Universidade Estadual de Maringá, e analisadas para MS pelo método 950.15 e proteína bruta pelo método Kjeldahl 984,13, onde  $\text{PB} = \text{N} \times 6,25$  (AOAC, 2002). A fibra detergente neutra (FDN), foi analisada pelo método de Van Soest (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991). O teor de amido das amostras foi determinado por degradação enzimática e as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro (KNUDSEN, 1997). Outras análises químicas incluíram cinzas pelo método 942.05, extrato etéreo (EE) pelo método 920.39, fibra em detergente ácido (FDA) e teor de lignina pelo método 973.18 (AOAC, 2002). Os teores de nutrientes digestivos totais (NDT) e energia líquida de lactação (ELL) foram calculados de acordo com (NRC, 2001).

A ingestão de matéria seca foi determinada através do registro diário das quantidades fornecidas de alimentos aos animais e pelas análises bromatológicas que foram realizadas das amostras coletadas. Os ajustes das quantidades de fornecimento das dietas ao longo da avaliação foram determinados de acordo com a rotina normal da propriedade. A qual realiza o fornecimento individualizado aos animais, de 1 Kg de ração para cada 3 litros de leite produzido por dia, e os ajustes de quantidade fornecida eram realizados a cada 14 dias.

Foram coletadas 2 amostras de 300 gramas de fezes cada, do reto de todos os animais. Uma das amostras foi utilizada para a avaliação do resíduo fecal, através da lavagem das fezes em peneira de 1mm, logo após a coleta, a qual após drenadas foi pesada. A outra amostra após coletada foi devidamente identificada e congelada a  $-10^{\circ}\text{C}$ , para posterior determinação da matéria seca (método 950.15; AOAC 2000) e amido fecal, conforme metodologia descrita por Hendrix (1993).



O peso corporal foi determinado com o uso da fita torácica de pesagem para bovinos leiteiros (Bovitec®), que apresenta grau de confiança de 95% (ABREU et al., 2015).

A avaliação da Condição de Escore Corporal foi realizada por um único avaliador, onde se utiliza uma escala de 1 a 5, para a classificação de vacas abaixo e acima do peso respectivamente, com intervalos de 0,25 pontos (FERGUSON; GALLIGAN; THOMSEN, 1994).

A produção de leite foi mensurada, nas duas ordenhas realizadas no dia, através de medidores volumétricos da marca MILKMETER® acoplados ao equipamento de ordenha.

Para a determinação da composição do leite, foram coletadas amostra representativas das duas ordenhas diárias de todos os animais, armazenadas em frascos de coletas (40 ml) contendo o conservante bronopol na forma de comprimido. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) que determinou através da técnica de infravermelho os parâmetros de Gordura, Proteína, Lactose, Extrato Seco Desengordurado, Extrato Seco Total e Nitrogênio Ureico do Leite, enquanto a técnica de citometria de fluxo foi utilizada para a determinação da variável Contagem de Células Somáticas (CCS).

Foram coletadas amostras de sangue de todos os animais avaliados. As amostras foram coletadas na veia coccígea, em tubos de 4 ml siliconizado seco a vácuo com ativador de coagulação, após a coleta as amostras foram centrifugadas para separação do soro que foi congelado a -10°C para posterior determinação de Glicose, Colesterol Total, Triglicerídeos, Proteína Total, Albumina, Ureia e Nitrogênio Ureico. As amostras foram analisadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá – Campus Umuarama, onde determinou-se através de kits comerciais da marca Labtest®. A Glicose, Colesterol Total e Triglicerídeos foram determinados em sistema enzimático por reação de ponto final. Proteína Total e Albumina foram determinadas por reação colorimétrica de ponto final. A Ureia também foi determinada em sistema enzimático, no entanto através da cinética de reação em dois tempos fixos, já o Nitrogênio Ureico foi calculado a partir dos resultados de Ureia multiplicando-os pelo fator 0,4667.

Também foram coletadas amostras de urina spot de todos os animais. A amostra de urina foi coletada por micção induzida, filtrada em gaze e uma alíquota de 30 ml foi acondicionada em coletor universal estéril de 50 ml, onde recebeu a adição de uma gota de solução PA (36N) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e congelada a -10°C, para posterior determinação de Ácido Úrico, Alantoína, Purinas Totais, Purinas Absorvíveis, Nitrogênio e Proteína Bruta. As amostras foram analisadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá – Campus Umuarama, onde determinou-se através de kits comerciais da marca Labtest®. As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico (CHEN; GOMES, 1992; FUJIHARA et al., 1987). A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina e leite expressos em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol dia<sup>-1</sup>) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol dia<sup>-1</sup>), por meio da equação:

$$DP = 0,85 \text{ Pabs} + 0,385 \text{ PV } 0,75$$

Em que: “0,85” é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e “0,385 PV 0,75”, a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC et al. 1990).

O volume urinário foi calculado da seguinte maneira:

$$VU \text{ (L dia}^{-1}\text{)} = (27,36 \text{ PV}) [\text{creatinina}]^{-1}$$

Onde: 27,36 representam o valor da excreção diária média de creatinina, em ppm PV (RENNÓ et al., 2008), PV é o peso vivo do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg L<sup>-1</sup>, encontrada na amostra de urina spot.

A análise de ácidos graxos do leite foi realizada somente no último período do experimento, sendo realizada a coleta de uma amostra (±200 ml) de leite de apenas de um dia, sendo uma alíquota da ordenha matutina e uma da ordenha vespertina. Para o processo de extração, as amostras foram centrifugadas a 17.800 x g por 30 minutos a 4 °C e próximo a 19.300 x g por 20 minutos a 4 °C, de acordo com Feng et al. (2004). A gordura separada (300-400 mg) foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer et al. (1997). Dois padrões internos C18:0 e C19:0 foram utilizados para corrigir as perdas durante o processo de metilação. A extração da gordura dos alimentos foi realizada de acordo com o método de Folch et al. (1957) e de metilação realizada de acordo com Kramer et al. (1997). Os

lipídeos foram extraídos por homogeneização da amostra com uma solução de clorofórmio e metanol 2:1. Em seguida os lipídeos foram isolados após a adição de solução de NaCl a 1,5%. Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu 2010, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m x 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70 °C por 4 minutos (13°C/minuto) até chegar a 175°C, mantendo por 27 minutos. depois, um novo aumento de 4°C/minuto, foi iniciado até 215°C, mantendo durante 31 minutos. Hidrogênio (H<sub>2</sub>) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm/s. durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-C24 de ácidos graxos (Supelco ® TM 37), ácido vacênico C18:1 *trans*-11 (V038-1g, Sigma®), C18:2 CLA *trans*-10, *cis*-12 (UC-61M 100mg), e C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (UC-60M 100mg), (NU-CHEK-PREP EUA ®) para identificação dos ácidos graxos que são formados durante a bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados.

O delineamento adotado foi inteiramente ao acaso, com análise de médias e de contrastes ortogonais, onde C1 = CON *versus* SGU + SGUP e C2 = SGU *versus* SGUP, realizadas por meio do programa SAS. Diferenças estatísticas foram consideradas a 5% de probabilidade.

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j + T_k + D_j T_k + e_{ijk}$$

Onde:  $Y_{ijy}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito de animal ( $i = 1$  a 32),  $D_j$  = efeito de dieta ( $j = 1$  a 3),  $T_k$  = efeito de tempo ( $k = 1$  a 5),  $D_j T_k$  = efeito de interação dieta\* Tempo e  $e_{ijk}$  = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por:  $A_i$ . Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM= kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e analisados por mediadas repetidas no tempo pelo comando PROC MIXED (SAS, 2004), adotando-se significância de 5%.

## RESULTADOS

Na Tabela 2 são demonstrados os dados referentes ao consumo das três dietas experimentais em relação aos parâmetros de, eficiência do consumo, avaliação de fezes e digestibilidade do amido alcançada pelos animais. Quanto ao consumo de matéria seca as vacas suplementadas com SGUP apresentaram maior consumo de matéria seca total (16,39 kg dia<sup>-1</sup>) em relação para SGU (15,57 kg dia<sup>-1</sup>) e CON (15,13 kg dia<sup>-1</sup>), com significância de  $P \leq 0,005$ , também houve efeito de tempo ( $P \leq 0,003$ ), no entanto não ocorreu efeito de interação entre dieta e tempo ( $P \leq 0,102$ ). Nos contrastes C1 (SGU + SGUP *versus* CON) ( $P \leq 0,011$ ), assim como no C2 (SGUP *versus* SGU) ( $P \leq 0,035$ ) houve significância entre os resultados para esta mesma variável.

Ao avaliar a eficiência (Tabela 2), as razões entre PL (Produção de Leite) com o CMS (Consumo de Matéria Seca) também foram maiores para as vacas suplementadas com SGUP (1,22 L Kg<sup>-1</sup>) em relação a SGU (1,10 L Kg<sup>-1</sup>) e CON (1,09 L Kg<sup>-1</sup>), assim como para o contraste C2 ( $P \leq 0,046$ ), enquanto C1 ( $P \leq 0,212$ ), não apresentou diferença. Houve efeito de tempo ( $P \leq 0,033$ ), mas não houve interação entre dieta e tempo ( $P > 0,096$ ).

Já a razão entre produção de leite corrigida e consumo de matéria seca, não apresentou diferença entre as vacas suplementadas com CON (1,31 L Kg<sup>-1</sup>); SGU (1,33 L kg<sup>-1</sup>) e SGUP (1,35 L kg<sup>-1</sup>) ou seus contrastes C1 ( $P \leq 0,565$ ) e C2 ( $P \leq 0,423$ ), assim como para a razão ECM (conteúdo de energia líquida do leite) pelo CMS os resultados não diferiram estatisticamente para as vacas suplementadas com as dietas CON (1,32 Mcal kg<sup>-1</sup>); SGU (1,34 Mcal kg<sup>-1</sup>) e SGUP (1,36 Mcal kg<sup>-1</sup>), e entre os contrastes C1 ( $P \leq 0,118$ ) e C2 ( $P \leq 0,528$ ), também não houve efeito de tempo e interação.

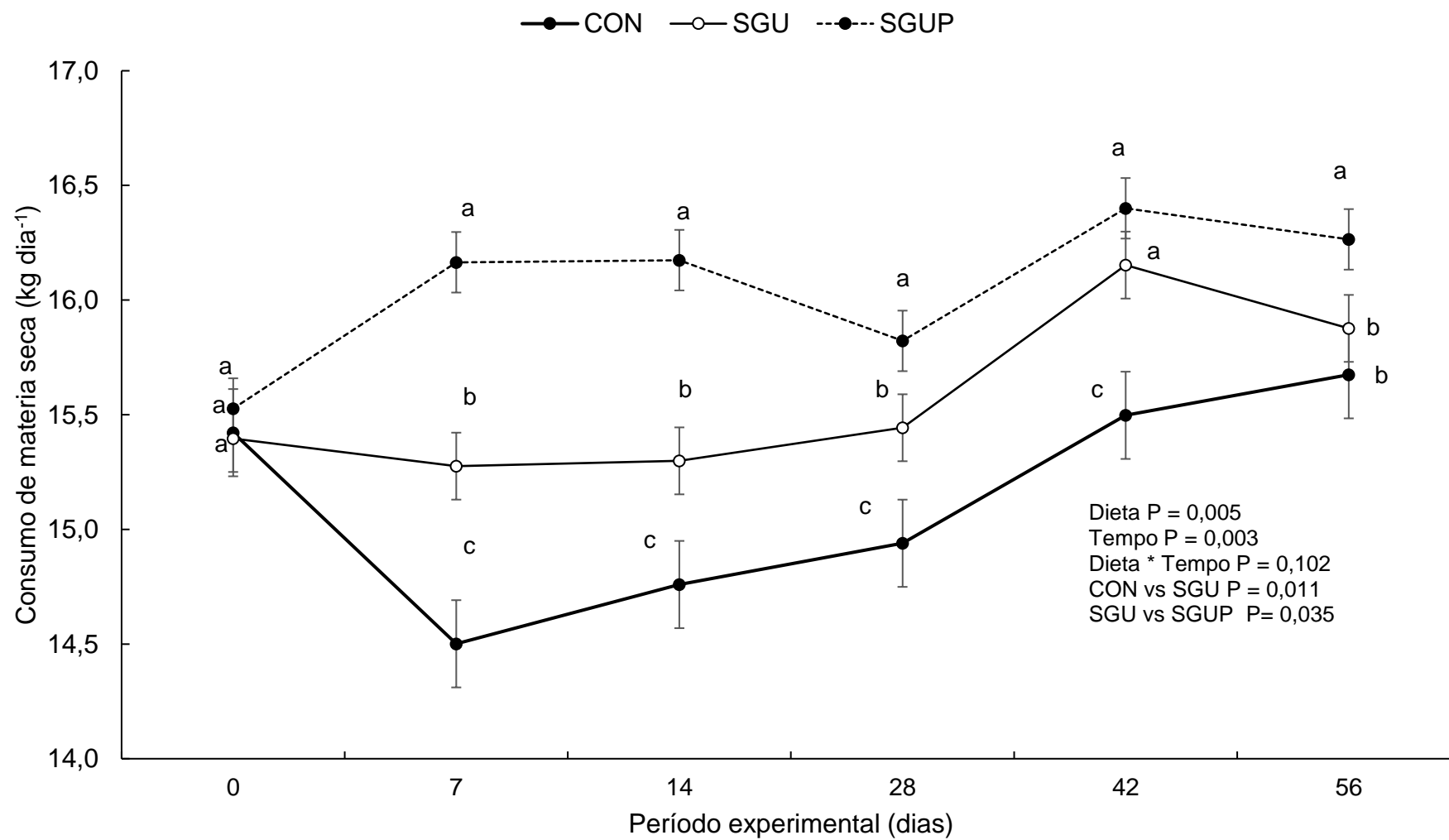
O Resíduo Fecal as vacas suplementadas com as dietas CON (18,88%); SGU (19,83%) e SGUP (19,51%), não apresentou diferença entre os tratamentos ( $P > 0,157$ ), assim como não houve diferença nos contrastes C1 ( $P > 0,338$ ) e C2 ( $P \leq 0,325$ ), no tempo e na interação.

Já para os resultados do Amido Fecal as vacas suplementadas com as dietas apresentaram diferença significativa ( $P < 0,0001$ ), onde a SGUP (4,69%) foi inferior a SGU (5,51%) e ao CON (7,45%), e também para os contrastes C1 ( $P \leq 0,015$ ) e C2 ( $P < 0,0001$ ), mas não ocorreram efeito de tempo e interação.

**Tabela 2.** Consumo, eficiência de consumo e avaliação de fezes de vacas alimentadas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Kg dia <sup>-1</sup>									
Consumo de matéria seca total	15,13	15,57	16,39	0,207	0,005	0,003	0,102	0,011	0,035
Consumo de concentrado	6,19	6,75	6,85	0,160	0,138	0,011	0,016	0,051	0,787
Consumo de silagem	8,80	8,99	9,44	0,163	0,247	0,009	0,139	0,232	0,262
% Peso corporal									
Consumo de matéria seca	2,83	2,92	3,03	0,029	0,018	0,075	0,010	0,030	0,106
Eficiência <sup>4</sup>									
PL CMS <sup>-1</sup>	1,09	1,10	1,22	0,025	0,048	0,033	0,096	0,212	0,046
PLC CMS <sup>-1</sup>	1,31	1,33	1,35	0,028	0,231	0,515	0,335	0,565	0,423
ECM CMS <sup>-1</sup>	1,32	1,34	1,36	0,026	0,831	0,231	0,437	0,118	0,528
Avaliação das fezes (%)									
Resíduo fecal	18,88	19,83	19,51	0,492	0,157	0,234	0,458	0,338	0,325
Amido fecal	7,45	5,51	4,69	0,012	<,0001	0,088	0,730	<,0001	0,015
Digestibilidade total amido	92,54	94,48	95,30	2,547	<,0001	0,088	0,730	<,0001	0,015

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>); <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (Controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP), <sup>4</sup>PL CMS<sup>-1</sup> (Produção de leite pelo consumo de matéria seca); PLC CMS<sup>-1</sup> (Produção de leite corrigida a 3,5% de gordura pelo consumo de matéria seca); ECM CMS<sup>-1</sup> (Energia líquida do leite pelo consumo de matéria seca).



**Figura 1.** Consumo de matéria seca ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.

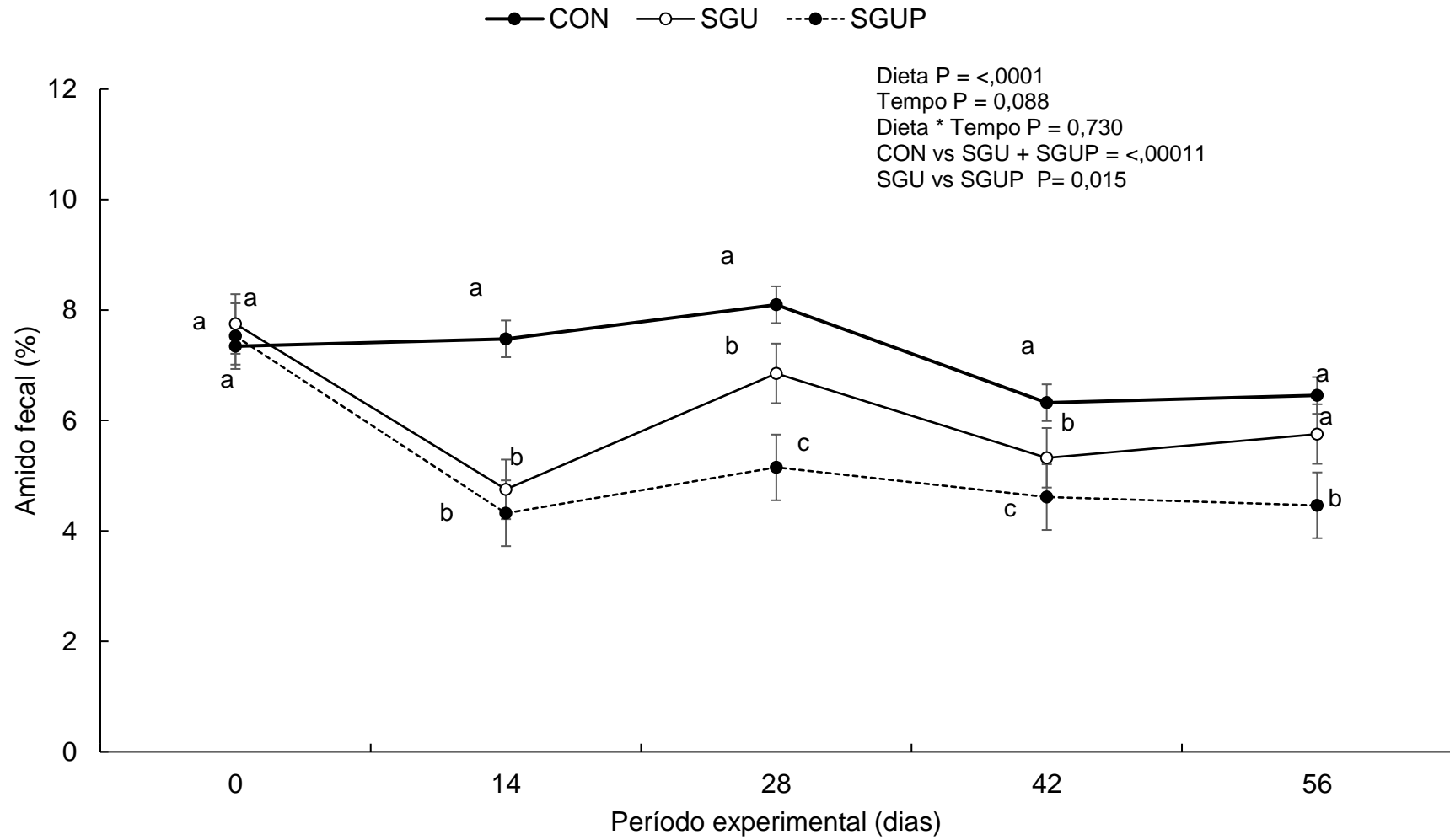
O consumo de matéria seca das vacas suplementadas com SGUP na maioria dos períodos de avaliação foi superior ao consumo de matéria seca das vacas que receberam SGU, assim como os animais alimentados com SGU em grande parte dos períodos foi maior que os animais que receberam a dieta CON (Figura 1).

O Amido Fecal das vacas suplementadas com a dieta CON a partir do segundo período de avaliação do experimento foi superior ao das vacas que receberam SGU e/ou SGUP. Sendo que no último período de avaliação (56 dias), apenas a SGUP apresentou diferença da dieta (Figura 2).

Na Tabela 3 observa-se que as vacas suplementadas com SGUP apresentaram maior PL ( $20,22 \text{ kg dia}^{-1}$ ) em relação a SGU ( $17,26 \text{ kg dia}^{-1}$ ) e CON ( $16,80 \text{ kg dia}^{-1}$ ), com significância de ( $P \leq 0,005$ ), também houve diferença nos contrastes C1 ( $P \leq 0,041$ ), assim C2 ( $P \leq 0,013$ ), não houve efeito de tempo, mas houve interação entre tempo e dieta. Já a PLC (produção de leite corrigida para 3,5% de gordura) foi maior para as vacas suplementadas com SGUP ( $22,66 \text{ kg dia}^{-1}$ ), seguida pelas alimentadas com CON ( $18,56 \text{ kg dia}^{-1}$ ) e SGU ( $17,56 \text{ kg dia}^{-1}$ ) de forma significativa ( $P \leq 0,001$ ) os contrastes C1 ( $P \leq 0,021$ ), assim C2 ( $P \leq 0,002$ ) foram significativos, assim como na PL não houve efeito de tempo, mas houve interação entre tempo e dieta.

O comportamento dos resultados experimentais para teor de gordura do leite foi similar a PLC, onde as vacas suplementadas com SGUP apresentou maior teor (4,05%) seguido pelas alimentadas com CON (4,03%) e SGU (3,56%), com valor de  $P \leq 0,001$ . Para o contraste C2 ( $P \leq 0,003$ ) a diferença foi significativa, enquanto para C1 ( $P \leq 0,775$ ) não houve diferença, assim como para tempo e interação tempo e dieta. Também foi observado diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para a composição do leite (proteína, lactose e nitrogênio ureico), enquanto os sólidos totais e desengordurados não foi observado diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos.

O peso corporal, escore de condição corporal, movimentação de peso corporal e movimentação de escore de condição corporal não foram influenciadas pelas dietas experimentais ( $P > 0,05$ ), apresentando apenas efeito de tempo para peso corporal ( $P < 0,0001$ ), escore de condição corporal ( $P \leq 0,001$ ), e movimentação de peso corporal ( $P \leq 0,007$ ).



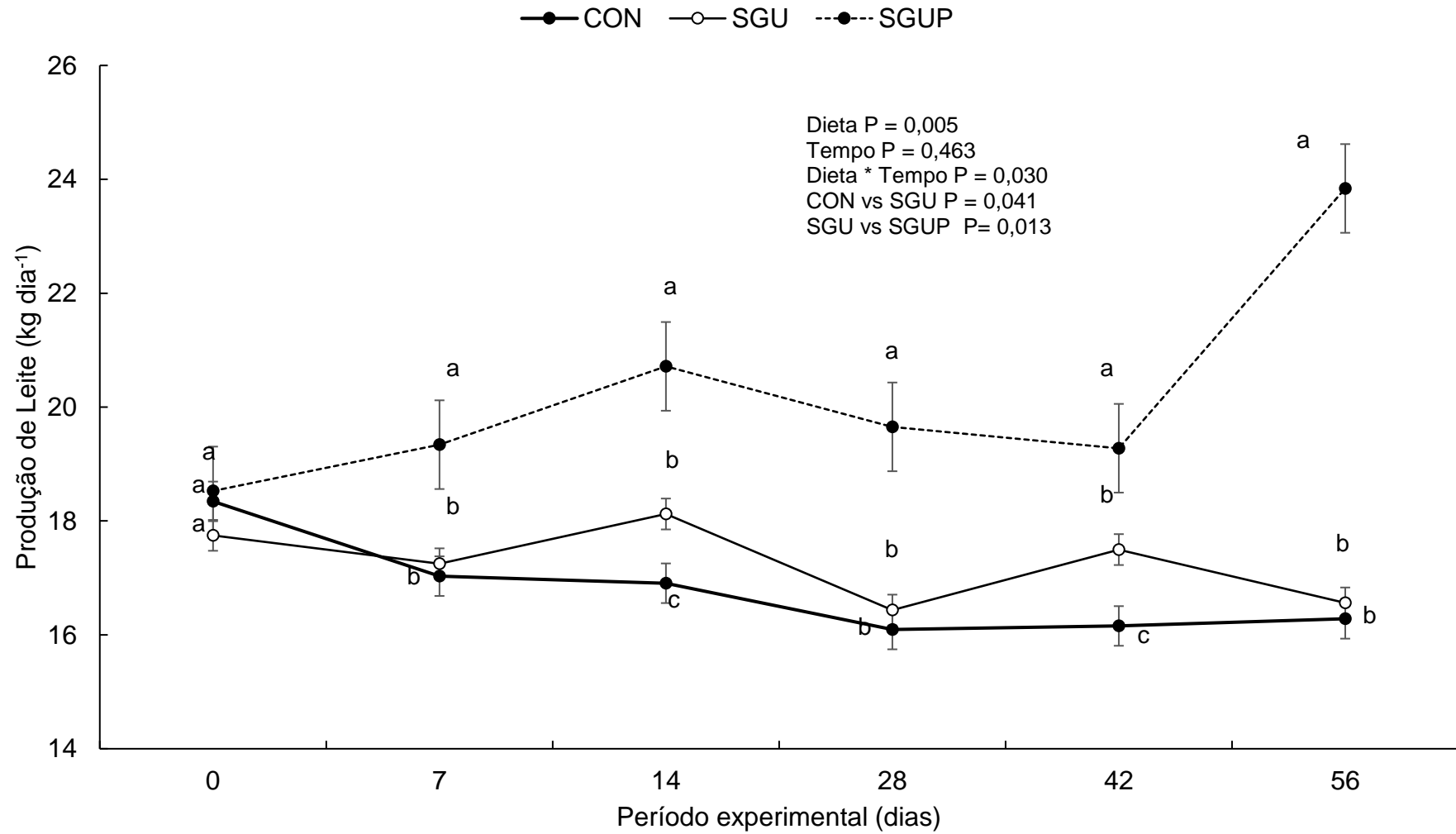
**Figura 2.** Amido Fecal ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.



**Tabela 3.** Desempenho produtivo, qualidade do leite e condição corporal das vacas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Kg dia <sup>-1</sup>									
Produção de leite	16,80	17,26	20,22	0,518	0,005	0,463	0,030	0,041	0,013
Produção corrigida 3,5%	18,56	17,56	22,66	0,574	0,001	0,564	0,055	0,021	0,002
Energia corrigida (Mcal dia <sup>-1</sup> )	19,03	17,89	22,95	0,552	0,002	0,502	0,461	0,032	0,011
Gordura	0,677	0,614	0,819	0,022	0,012	0,547	0,214	0,124	0,002
Proteína	0,557	0,605	0,721	0,015	0,005	0,321	0,154	0,002	0,231
Lactose	0,809	0,747	0,996	0,025	0,002	0,150	0,021	0,278	0,001
Sólidos totais	2,41	2,25	2,61	0,064	0,111	0,192	0,065	0,912	0,038
%									
Gordura	4,03	3,56	4,05	0,083	0,001	0,815	0,435	0,775	0,003
Proteína	3,32	3,51	3,57	0,040	0,031	0,371	0,037	0,008	0,318
Lactose	4,37	4,42	4,55	0,025	0,052	0,013	0,390	0,074	0,098
Sólidos totais	13,27	13,15	13,09	0,109	0,338	0,698	0,146	0,132	0,124
Sólidos desengordurado	8,87	8,92	8,86	0,047	0,195	0,217	0,201	0,499	0,096
Nitrogênio ureico leite (mg dL <sup>-1</sup> )	12,78	10,78	10,45	0,533	0,002	0,005	0,078	0,005	0,962
CCS, (Log <sub>10</sub> )	2,62	2,83	2,30	0,057	0,023	0,209	0,069	0,770	0,032
Peso corporal (kg)									
MPC <sup>4</sup>	545	534	541	7,800	0,125	<,0001	0,459	0,137	0,160
ECC <sup>5</sup>	7,25	4,70	5,17	2,168	0,562	0,001	0,447	0,291	0,850
MECC <sup>6</sup>	3,12	3,04	2,98	0,035	0,166	0,007	0,136	0,106	0,356
	0,031	0,068	0,037	0,024	0,485	0,312	0,112	0,450	0,350

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>); <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP), <sup>4</sup>Movimentação do peso corporal, <sup>5</sup>Escore de condição corporal, <sup>6</sup>Movimentação do escore de condição corporal.



**Figura 3.** Produção de leite ao longo do período experimental de acordo com as dietas experimentais.

**Tabela 4.** Perfil de ácido graxos do leite produzido pelas vacas de acordo com as dietas experimentais.

Ácidos Graxos (g/100g)	Dietas Experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
C4:0	1,615	1,629	1,603	0,008	0,312	<,0001	0,056	0,925	0,129
C6:0	1,614	1,583	1,584	0,007	0,036	0,023	0,075	0,010	0,939
C8:0	2,929	2,900	2,926	0,008	0,101	0,295	0,259	0,206	0,088
C10:0	6,802	6,754	6,733	0,023	0,382	0,036	0,341	0,185	0,672
C12:0	4,198	4,206	4,213	0,004	0,389	0,004	0,451	0,222	0,520
C14:0	11,31	11,29	11,28	0,018	0,509	<,0001	0,007	0,285	0,626
C14:1	0,055	0,053	0,054	0,001	0,151	0,001	0,004	0,053	0,895
C15:0	1,461	1,462	1,463	0,004	0,957	0,076	0,225	0,861	0,810
C15:1	0,195	0,201	0,210	0,002	0,003	<,0001	0,186	0,024	0,006
C16:0	27,41	27,47	27,68	0,046	0,041	<,0001	0,054	0,114	0,034
C16:1	0,976	0,961	0,956	0,004	0,043	0,790	0,666	0,029	0,601
C17:0	0,175	0,168	0,167	0,002	0,214	<,0001	0,897	0,223	0,334
C17:1	0,414	0,423	0,412	0,004	0,354	<,0001	0,702	0,666	0,173
C18:0	14,30	14,29	14,16	0,029	0,113	0,115	0,021	0,218	0,088
<i>cis</i> 11, C18:1	7,18	7,15	7,19	0,013	0,568	0,439	0,030	0,545	0,387
<i>cis</i> 9, C18:1	13,51	13,60	13,56	0,031	0,544	0,598	0,088	0,329	0,619
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12, C18:2	1,546	1,553	1,532	0,007	0,404	<,0001	0,449	0,776	0,187
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15, C18:3	1,553	1,561	1,536	0,002	0,177	0,008	0,334	0,701	0,085
C20:0	0,847	0,852	0,857	0,006	0,028	0,897	0,959	0,041	0,243
C22:0	0,851	0,855	0,850	0,002	0,557	0,224	0,554	0,557	0,225
C24:0	0,160	0,161	0,163	0,002	0,447	0,225	0,521	0,412	0,842
Sumário									
Σ 4- a 14-C <sup>4</sup>	28,53	28,42	28,40	0,033	0,146	0,008	0,161	0,112	0,724
Σ acima de 16-C <sup>5</sup>	69,80	69,91	69,92	0,033	0,180	0,005	0,158	0,066	0,822
Σ AGS <sup>6</sup>	73,69	73,63	73,70	0,034	0,740	0,752	0,261	0,716	0,504
Σ AGI <sup>7</sup>	25,32	25,40	25,34	0,034	0,686	0,707	0,221	0,559	0,527
Σ AGMI <sup>8</sup>	22,34	22,39	22,37	0,033	0,860	0,808	0,147	0,623	0,870
Σ AGPI <sup>9</sup>	3,950	3,960	3,920	0,010	0,452	0,002	0,564	0,087	0,124
Σ AGCI <sup>10</sup>	2,251	2,253	2,252	0,005	0,124	0,225	0,874	0,556	0,789
Relação sat/insat <sup>11</sup>	2,91	2,89	2,90	0,006	0,224	0,087	0,665	0,335	0,442

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g/ton de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI/g).<sup>2</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1(controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP).

<sup>4</sup>Ácidos graxos de 4 a 14 carbonos. <sup>5</sup>Ácidos graxos com mais de 16 carbonos. <sup>6</sup>Ácidos graxos saturados. <sup>7</sup>Ácidos graxos insaturados <sup>8</sup>Ácidos graxos monoinsaturados. <sup>9</sup>Ácidos graxos poliinsaturados. <sup>10</sup>Ácidos graxos de cadeia ímpar. <sup>11</sup>Relação ácidos graxos saturados/insaturados total.

As vacas alimentadas com SGUP apresentaram contagem de células somáticas menores em relação as vacas alimentadas com as demais dietas ( $P \leq 0,023$ ), e não houve efeito de tempo ( $P > 0,209$ ) e interação ( $P > 0,069$ ).

A Produção de Leite das vacas alimentadas com a dieta experimental SGUP a partir do segundo período de avaliação do experimento foi superior ao das vacas que receberam SGU e CON, conforme demonstrado na Figura 3.

Quanto ao perfil de ácidos graxos do leite (Tabela 4) vacas alimentadas com a dieta CON apresentaram mais ácidos graxos das cadeias carbônicas C6 e C16:1 frente as que receberam as dietas SGU e SGUP, assim como foi maior para o contraste C1. Para C15:1 as vacas alimentadas com SGUP obtiveram resultado superior as que receberam SGU que também foi superior a CON o que é confirmado pelo efeito no C1 e C2. Já para cadeia C16:0, vacas alimentadas com SGUP também obtiveram resultado superior as que receberam a dieta SGU e a CON, mas a dieta SGU não foi superior ao controle, conforme demonstrado pelo efeito de apenas C2. Para C20:0 as vacas alimentadas com SGUP obtiveram resultado superior apenas em relação a dieta CON e C1. Para as demais cadeias carbônicas e agrupamentos de ácidos graxos não houve efeito das dietas.

As vacas suplementadas com as dietas SGUP e SGU apresentaram maior concentração plasmática de glicose ( $P \leq 0,0001$ ) em relação a dieta CON. Já para a concentração de colesterol total do grupo CON foi maior que dos grupos SGUP e SGU ( $P \leq 0,042$ ). Os parâmetros de triglicerídeos ( $P > 0,320$ ), proteína total ( $P > 0,149$ ) e albumina ( $P > 0,170$ ) não diferiram entre os tratamentos. Enquanto os níveis de ureia ( $P \leq 0,0001$ ) e nitrogênio ureico ( $P \leq 0,0001$ ), foram maiores para os animais alimentados com a dieta CON (Tabela 5).

Na avaliação síntese de proteína microbiana (Tabela 6), observou-se que não houve diferenças na concentração ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) de ácido úrico ( $P > 0,168$ ), alantoína ( $P > 0,746$ ), purinas totais ( $P > 0,694$ ). Assim como a excreção ( $\text{mmol dia}^{-1}$ ) de ácido úrico ( $P > 0,144$ ), alantoína ( $P > 0,381$ ) também não apresentaram diferença. Na avaliação da excreção das purinas totais ( $P \leq 0,021$ ) e purinas absorvíveis ( $P \leq 0,018$ ) os resultados foram maiores para as vacas suplementadas com a dieta SGUP. De maneira semelhante na avaliação da excreção do nitrogênio ( $P \leq 0,002$ ) e proteína bruta ( $P \leq 0,002$ ) foram observados maiores valores para os animais alimentados com SGUP.

**Tabela 5.** Perfil bioquímico do sangue de vacas em lactação tratadas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )	60,98	75,56	76,39	4,094	<,0001	0,078	0,810	0,024	0,912
Colesterol total (mg dL <sup>-1</sup> )	155,83	134,00	127,20	7,566	0,042	<,0001	0,319	0,033	0,616
Triglicerídeos (mg dL <sup>-1</sup> )	217,98	204,36	209,44	3,772	0,320	0,003	0,647	0,161	0,575
Proteína total (g L <sup>-1</sup> )	8,66	9,10	8,46	0,156	0,149	<,0001	0,047	0,672	0,057
Albumina (g L <sup>-1</sup> )	3,36	3,28	3,64	0,096	0,170	0,016	0,750	0,582	0,072
Ureia (mg dL <sup>-1</sup> )	28,42	21,24	23,90	0,752	<,0001	0,072	0,105	0,033	0,396
Nitrogênio ureico (mg dL <sup>-1</sup> )	12,33	9,22	10,37	0,326	<,0001	0,072	0,105	0,033	0,396

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>), <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP).

**Tabela 6.** Síntese de proteína microbiana de vacas em lactação tratadas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	SGU	SGUP		Dieta	Tempo	INT	C1	C2
Ácido úrico (mmol L <sup>-1</sup> )	1,35	1,38	1,74	0,057	0,168	0,029	0,959	0,296	0,115
Alantoína urina (mmol L <sup>-1</sup> )	40,98	39,37	42,21	1,475	0,746	0,429	0,025	0,954	0,447
Alantoína leite (mmol L <sup>-1</sup> )	0,901	0,866	0,928	0,032	0,658	0,451	0,065	0,984	0,445
Purinas totais (mmol L <sup>-1</sup> )	43,23	41,62	44,88	1,510	0,694	0,377	<,0001	0,995	0,394
Ácido úrico (mmol dia <sup>-1</sup> )	20,79	21,18	27,04	0,962	0,144	0,003	0,506	0,278	0,099
Alantoína urina (mmol dia <sup>-1</sup> )	656,28	592,96	659,20	26,085	0,381	0,239	<,0001	0,287	0,064
Alantoína leite (mmol dia <sup>-1</sup> )	15,67	13,04	19,93	0,824	0,387	0,235	0,002	0,288	0,075
Purinas totais (mmol dia <sup>-1</sup> )	692,75	627,19	706,18	26,665	0,021	0,226	0,023	0,085	0,001
Purinas absorvíveis (mmol dia <sup>-1</sup> )	674,71	607,68	686,52	26,670	0,018	0,335	0,003	0,095	0,015
<i>Síntese microbiana (g dia<sup>-1</sup>)</i>									
Nitrogênio	490,54	441,81	499,13	19,390	0,002	0,338	0,021	0,112	0,036
Proteína bruta	3065	2761	3119	121,19	0,002	0,338	0,021	0,112	0,036

<sup>1</sup>CON (dieta controle); SGU (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado); SGUP (dieta com substituição total do milho moído por silagem de grão úmido de milho reidratado + 500 g ton<sup>-1</sup> de CINBENZA DP100® extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI g<sup>-1</sup>), <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média), <sup>3</sup>INT (efeito de interação dieta\* tempo); C1 (controle vs SGU+SGUP); C2 (SGU vs SGUP).

## DISCUSSÃO

Em função da quebra da matriz proteica composta por zeína, muito presente no endosperma dos grãos utilizados, do tipo “*Flint*” (DELCOUR; HOSENEY, 2010). A silagem de grãos de milho reidratado com ação da protease, ao chegar ao rumem dos animais passa a ter o amido degradado pela microbiota ruminal de forma mais facilitada frente as outras dietas (JUNGES et al., 2017).

Com a chegada do amido ao rúmen, inicia-se seu processo de fermentação juntamente a outros carboidratos da dieta. Os microrganismos envolvidos são bactérias e protozoários, sendo as bactérias principais responsáveis pela digestão do amido. A hidrólise do amido é iniciada com a adesão das bactérias ruminais ao grânulo de amido, onde ocorre uma interação envolvendo forças de van der Waals com a superfície do substrato, este processo começa com uma interação iônica hidrofóbica, envolvendo a anulação das cargas tanto da membrana celular da bactéria quanto do substrato, principalmente Ca e Mg, pois ambas tem carga negativa no exterior (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991).

Em grãos de milho inteiros, assim como em grãos com endosperma vítreo, a adesão das bactérias é prejudicada pelo pericarpo e pela matriz proteica que envolve o amido, que são mais resistentes à digestão por dificultarem a ação das enzimas (HUNTINGTON, 1997). Sendo este o ponto focal para a diferença no processo de digestão do amido da dieta com a silagem de grão de milho reidratado com a adição de protease, pois no processo de ensilagem ocorre a quebra do pericarpo durante a moagem do grãos, ocorre a hidratação, que também acelera o processo de adesão das bactérias, e a ação da protease realiza a quebra da matriz proteica que envolve os grânulos de amido. Sendo assim o amido proveniente da silagem de grão de milho reidratado com a adição de protease fica prontamente disponível, acelerando o processo de adesão das bactérias ao grânulo de amido e conseqüentemente o processo de degradação deste.

Com o aumento da velocidade de ataque ao grânulo de amido, uma maior parte deste consegue ser degradado, e conseqüentemente os produtos gerados desta degradação (oligossacarídeos, dissacarídeos ou monossacarídeos) são mais absorvidos pelas bactérias e passam a ser utilizados para a produção de proteína microbiana ou ácidos graxos voláteis, sendo estes a principal fonte de energia para

os ruminantes (KOZLOSKI, 2011). O que neste trabalho foi comprovado pelo maior concentração de glicose plasmática para os animais que receberam as dietas com silagens de grãos reidratados, assim como a maior síntese microbiana para os animais que receberam a dieta com adição de protease.

Neste trabalho, as vacas alimentadas com a dieta composta por SGUP tiveram uma maior ingestão que as alimentadas com SGU e CON ao longo de todo período experimental (Figura 1). Em avaliação com vacas recebendo silagem de grãos de milho reidratado em substituição do milho moído seco, a partir de dietas com cana-de-açúcar como volumoso, o consumo de matéria seca foi maior para silagem de grãos de milho reidratado (ARCARI et al., 2016b). Estudo avaliando dietas com silagem de grãos de milho reidratado substituindo o milho seco moído observou efeito no consumo de matéria seca, quando comparado aos demais tratamentos (MENDES, 2013). Ovinos alimentados com silagem de grão de milho reidratados com adição de enzimas amilolíticas apresentaram maior consumo de matéria seca em relação ao controle sem adição de enzimas amilolíticas (CARMO et al., 2018).

A produção de leite foi 17% ( $2,96 \text{ kg dia}^{-1}$ ) maior para as vacas alimentadas com SGUP em relação as alimentadas com SGU e de 20% ( $3,42 \text{ kg dia}^{-1}$ ) em relação aos alimentados com CON. A diferença na produção de leite com a utilização do processo de ensilagem e adição da protease nesse trabalho é oposto aos resultados de estudo que ao substituírem a silagem de grão úmido pelo grão seco moído não observaram diferenças na produção ou na composição do leite, relatando que a digestão pós-ruminal do amido do grão seco compensou a alta digestibilidade ruminal apresentada nas vacas que consumiram silagem de grão de milho úmido (BRODERICK, 2003). Pode ocorrer o deslocamento do local de digestão do amido do rúmen para o intestino, fazendo com que haja maior digestão do amido no intestino grosso para o tratamento de milho moído seco em comparação com o milho úmido (OBA; ALLEN, 2003). Outro fator a ser considerado é o tempo de ensilagem, pois a matriz proteica do grão de milho é degradada durante o processo de ensilagem, o que facilita o acesso de microrganismos ruminais aos grânulos de amido (YOUNG et al., 2012). Ao avaliarem o efeito do tempo de ensilagem do milho moído reidratado sobre a degradabilidade *in situ* do amido, observa-se que a quantidade de amido que apresenta comportamento de fração rapidamente degradável aos 330 dias, foi aproximadamente 250% maior do

que aos três dias da ensilagem (ARCARI et al., 2016a). Então, a progressiva degradação da matriz proteica do milho pela atividade microbiana ruminal e pelos produtos finais da fermentação podem possivelmente ser explicados pelo aumento da degradabilidade do amido ao longo do período de armazenamento o que não interfere diretamente no consumo dos animais, porém pode influenciar positivamente a digestibilidade da matéria seca e nutrientes, ocasionando o conseqüente aumento da produção de leite.

Avaliando a eficiência alimentar, os animais alimentados com SGUP obtiveram resultados superiores aos demais tratamentos, o que pode ser comprovado pelo menor amido fecal encontrado e conseqüente digestibilidade total do amido, assim como pela maior produção de leite em função do consumo de matéria seca (Tabela 4). Animais alimentados com silagem de grão de milho reidratado obtiveram maior eficiência alimentar do que os alimentados com milho seco moído (PASSINI et al., 2008). O que corrobora com estudo que verificou uma interação positiva ao avaliar os efeitos da reidratação e ensilagem do grão de milho na degradabilidade ruminal (ANDRADE FILHO et al., 2010).

O peso vivo das vacas e escore de condição corporal não teve efeito das dietas. No entanto observou-se que os animais estavam em condição corporal adequada para um bom desempenho de produção de leite, sendo sugerido que vacas ao início da lactação devem ter como escore corporal ideal  $3,00 \pm 0,25$  pontos, vacas no meio da lactação  $3,25 \pm 0,25$  e ao fim da lactação  $3,50 \pm 0,25$  (FERGUSON; GALLIGAN; THOMSEN, 1994). O peso vivo e escores de condição corporal não foram afetados pelo processamento dos grãos de milho (YU et al., 1998). Bovinos alimentados com dietas à base de grãos de milho processados produziram a mesma quantidade de leite, e mantiveram seu peso e escore corporal (PRIOR, 1983).

Uma das formas de avaliar a digestibilidade do amido na dieta de vacas em lactação é através da análise do amido fecal (FREDIN et al., 2014). A avaliação da concentração fecal de amido provou ser precisa como um preditor de degradação e digestibilidade de amido por vacas leiteiras (VILLOT et al., 2020). O teor de amido encontrado nas fezes foi menor para as vacas alimentadas com silagem de grãos de milho reidratados (5,51%), e a adição de protease favoreceu a redução do teor de amido fecal (4,69%), enquanto o controle obteve o maior valor (7,45%) (Tabela 3),



resultado que corrobora com a hipótese deste trabalho. Valores de amido fecal acima de 5% indicam um inadequado processamento de grãos usados em alimentos ricos em amido na dieta (OWENS; SODERLUND, 2007). Sendo uma justificativa para tal que o processamento dos grãos de milho na confecção das silagens de grãos, assim como a ação da protease obtida a partir do *Bacillus licheniformis*, tem efeito na fragilização da matriz proteica formada pela zeína, altamente presente no endosperma do grão de milho do tipo vítreo.

As quantidades assim como os teores de Gordura e Proteína do leite produzido foram maiores para os animais alimentados com SGUP (Tabela 5), o que pode ser associado a maior produção de ácidos graxos voláteis e proteína microbiana pela flora ruminal, em função da maior disponibilidade do amido ingerido pelas vacas. O impacto do processamento do grão na gordura do leite é inconsistente na literatura. Maior teor de gordura no leite das vacas alimentadas com silagens de milho com grãos processados (DHIMAN et al., 2000). Assim como maior teor de gordura do leite, foi observado para silagens de planta de milho com grãos não processados, quando comparadas às silagens com grãos processados (FERRARETTO; SHAVER, 2012).

Os teores de nitrogênio ureico do leite foram menores para os animais alimentados com as dietas que receberam as silagens de grãos de milho reidratado (Tabela 5). O aumento da fermentação do amido no rúmen resultou em aumento da síntese de proteína microbiana, que foi associada a uma maior síntese de proteínas pela glândula mamária (THEURER et al., 1999). Entre as dietas, o NUL de vacas alimentadas com a dieta CON obteve um valor mais alto ( $12,78 \text{ mg dL}^{-1}$ ) quando comparado a média das dietas com silagem de grãos de milho reidratado ( $10,63 \text{ mg dL}^{-1}$ ) o que é explicado pela menor energia liberada no rúmen, que limita o uso do nitrogênio produzido na fermentação ruminal e ocasiona o aumento na absorção de amônia (GRANT, 2005). Os resultados do NUL menor para os tratamentos SGUP e SGU, juntamente com os menores valores de nitrogênio ureico no plasma para as dietas SGUP e SGU (Tabela 7), mostra que o processo de ensilagem pode estar criando um melhor padrão de fermentação para aproveitamento do nitrogênio disponível, resultado que também valida a hipótese deste trabalho.

O aumento do fornecimento de carboidratos não estruturais, com elevados teores de amido, pode diminuir o pH ruminal e a eficiência de síntese microbiana, ao

mesmo tempo que a falta de carboidratos com taxa de fermentação mais rápida reduz o nível de energia disponível para o crescimento bacteriano (CLARK; KLUSMEYER; CAMERON, 1992). Redução de  $1,2 \text{ mg dL}^{-1}$  foi observada para silagens com grãos processados (SCHWAB et al., 2002). O aumento da digestibilidade do amido no rúmen pode afetar o pH e a produção de ácidos graxos voláteis do rúmen (FERRARETTO; SHAVER, 2012). Maiores concentrações de propionato ruminal, que afetou a relação acetato/propionato, foram relatadas para vacas em lactação alimentadas com silagens de milho com grãos processados (DHIMAN et al., 2000; SCHWAB et al., 2002).

Diversos fatores interferem na digestão do amido pelos ruminantes, alterando a dinâmica e a quantidade de amido que será fermentado no rúmen ou que chegará ao intestino (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006). Fatores tais como maturidade na colheita, teor de umidade, tipo de endosperma, tamanho da partícula, método do armazenamento, duração da fermentação do silo afetam a digestibilidade do amido (HOFFMAN et al., 2011; LOPES et al., 2009). A digestibilidade total do amido de vacas em lactação pode variar de 70 a 100% (FERRARETTO; CRUMP; SHAVER, 2013; FIRKINS et al., 2001). Valores de digestibilidade total do amido próximos a 95% são considerados adequados, sendo ideais os valores acima de 98% (IRELAND-PERRY; STALLINGS, 1993; WHEELER; NOLLER, 1977). Os valores encontrados para digestibilidade total do amido para SGUP (95,30%) foi superior ao SGU (94,48%) que também foi superior ao CON (92,54%).

A glicose plasmática foi maior para os animais que receberam as dietas com as silagens de grão de milho reidratado (Tabela 7), fato que ajuda a validar a hipótese deste trabalho. A concentração de glicose presente no plasma é refletida pela produção dos precursores da glicose, como o propionato ruminal (VLAEMINCK et al., 2006), assim como pela absorção duodenal de glicose (NOCEK; TAMMINGA, 1991). O estímulo da síntese de lactose e o conseqüente aumento da produção de leite, está vinculado ao aumento da concentração da glicose plasmática (COOKE; BERNARD, 2005).

Os ácidos graxos do leite com cadeias carbônicas C15:1, C16:0 e C20:0, classificados como cadeias carbônicas média e longa, tiveram aumento para os animais alimentados com as dietas com inclusão da silagem de grãos de milho reidratado e protease quando comparado ao controle. Os ácidos graxos lácteos

saturados, de cadeia com 18 ou mais carbonos são originados da dieta, dos quais se destaca o ácido esteárico, que normalmente apresenta os teores mais elevados no leite (RIBEIRO et al., 2014). Observa-se uma relação positiva entre a concentração de ácidos graxos não esterificados no sangue e ácidos graxos de 18 carbonos no leite de bovinos, demonstrando que vacas que possuem maior lipomobilização apresentam maior proporção de ácidos graxos de 18 carbonos no leite (JORJONG et al., 2014). Ácidos graxos de cadeia longa, na faixa de 18 a 20 carbonos chegam para a glândula mamária através do plasma e têm origem na dieta ou na síntese de ácidos graxos feita pelo tecido adiposo do bovino e podem representar 55% dos ácidos graxos presentes no leite (PEREIRA et al., 2004).

O aumento na produtividade dos animais alimentados com silagem de grãos de milho reidratado e com a adição de protease, pode ser justificado pela melhor eficiência da digestibilidade do trato digestório destes animais, sendo a menor concentração de amido fecal uma comprovação, assim como a redução do NUL do leite, aumento da concentração de glicose no plasma e o aumento dos ácidos graxos do leite de cadeia carbônica longa.

## CONCLUSÕES

A utilização de silagem de grão de milho reidratado com adição de protease melhora o desempenho produtivo de vacas em lactação, pela melhor degradabilidade do amido, recomendando-se desta forma a substituição do grão de milho moído seco pela silagem de grão de milho reidratado com adição de protease.

## REFERÊNCIAS

ABREU, B. A. et al. Variação da medida torácica obtida com a fita métrica tradicional com fator de correção e com a fita de pesagem para bovinos. **Acta Biomédica Brasiliensia**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 42, 2015. Disponível em: <<http://www.actabiomedica.com.br/index.php/acta/article/view/19>>

ANDRADE FILHO, R. et al. Degradabilidade ruminal in situ de grãos de milho maduros do tipo finto ou dentado, secos ou reconstituídos e ensilados. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Salvador, 2010.

ANTUNES, C. R. et al. Perfil lipídico do queijo e do leite de vacas alimentadas

com casca de banana. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1–9, 2018. Disponível em: <<http://www.agraria.pro.br/ojs32/index.php/RBCA/article/view/v13i1a5496>>

AOAC. **AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis**. [s.l.] : Oxford Academic, 2002. v. 85Feldsine, PhilipAbeyta, CarlosAndrews, Wallace H. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jaoac/article/85/5/1187/5656729>>. Acesso em: 6 mar. 2022.

ARCARI, M. A. et al. Effect of the ensiling time of hydrated ground corn on silage composition and in situ starch degradability. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 60, 2016. a. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/97794>>

ARCARI, M. A. et al. Effect of substituting dry corn with rehydrated ensiled corn on dairy cow milk yield and nutrient digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 221, p. 167–173, 2016. b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840116304631>>

BARBOSA, D. P. **Silagem de milho grão reidratado submetido a níveis crescentes de pepsina aberto em diferentes tempos**. 2021. Universidade Federal do Amazonas, [s. l.], 2021.

BATISTA, J. D. O. et al. Effects of amylase and glucoamylase on rehydrated corn ensiled for an extended period: nutritive value, fermentation profile, and amylolytic activity. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–14, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00288233.2021.1945638>>

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. A.; OLIVEIRA, S. . **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FAPESP, 2006.

BIAZUS, V. **Rendimento, valor nutritivo e características fermentativas de silagens de grãos úmidos de cereais de inverno**. 2018. Universidade de Passo Fundo, [s. l.], 2018.

BITTENCOURT, T. M. et al. Distillers dried grains with solubles from corn in diet of Japanese quails. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 1–7, 2019.

BRODERICK, G. A. Effects of Varying Dietary Protein and Energy Levels on the Production of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 86, n. 4, p. 1370–1381, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73721-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73721-7)>

CAMARGO, A. C. De et al. **Fazenda Nata da Serra Serra Negra , SP**. 1. ed. Brasília: Embrapa Pecuária Sudeste, 2020.

CARMO, A. A. Do et al. Enzimas amilolíticas em silagem de grão úmido de milho reidratado: consumo de matéria seca e nutrientes. **Anais Zootec 2018**, Goiânia, 2018.

CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial Protein Synthesis and Flows of Nitrogen Fractions to the Duodenum of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 75, n. 8, p. 2304–2323, 1992. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77992-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77992-2)>

COOKE, K. M.; BERNARD, J. K. Effect of Length of Cut and Kernel Processing on Use of Corn Silage by Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 88, n. 1, p. 310–316, 2005. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72689-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72689-8)>

CURADO, P. H. C. F. **Efeito da adição de amiloglucosidade e pepsina ao longo do tempo de ensilagem do milho grão moído e reidratado**. 2020. Universidade Federal do Amazonas, [s. l.], 2020.

DEL VALLE, T. A. et al. Whole corn grain addition in sugarcane silage avoids fermentative losses and improves in situ degradation of silage. **Tropical Grasslands-Forrajés Tropicales**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 493–501, 2019. Disponível em: <<http://tropicalgrasslands.info/index.php/tgft/article/view/477>>

DHIMAN, T. R. et al. Influence of Mechanical Processing on Utilization of Corn Silage by Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 83, n. 11, p. 2521–2528, 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75144-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75144-7)>

DUQUE, A. C. A. et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo ou não glicerina bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 243–252, 2020. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352020000100243&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352020000100243&tlng=pt)>

FAUSTINO, T. F. et al. USE OF SILAGE OF REHYDRATED SORGHUM GRAIN IN THE ANIMAL FEEDING. **Nucleus Animalium**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 47–60, 2018. Disponível em: <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6814723>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

FAUSTINO, T. F. et al. UTILIZAÇÃO DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO E CASCA DE CAFÉ NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Revista Científica Rural**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 259–275, 2020. Disponível em: <<http://revista.urcamp.tche.br/index.php/RCR/article/view/371>>

FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; THOMSEN, N. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 77, n. 9, p. 2695–2703, 1994. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77212-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77212-X)>

FERRARETTO, L. F.; CRUMP, P. M.; SHAVER, R. D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 96, n. 1, p. 533–550, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5932>>

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D. Meta-analysis: Effect of corn silage harvest practices on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **The Professional Animal Scientist**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 141–149, 2012. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30334-X](http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30334-X)>

FIRKINS, J. L. et al. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 79, n. E-Suppl, p. E218, 2001. Disponível em: <[https://academic.oup.com/jas/article/79/suppl\\_E/E218-E238/4626039](https://academic.oup.com/jas/article/79/suppl_E/E218-E238/4626039)>

FREDIN, S. M. et al. Fecal starch as an indicator of total-tract starch digestibility by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 97, n. 3, p. 1862–1871, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7395>>

GANDRA, J. R. S. et al. Amylolytic activity and chemical composition of rehydrated ground maize ensiled with  $\alpha$ -amylase or glucoamylase. **The Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 157, n. 5, p. 449–455, 2019. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0021859619000698/type/journal>>

\_article>

GRANT, R. Optimizing Starch Concentrations in Dairy Rations. **Tri-State Dairy Nutrition Conference**, New York, n. 518, p. 73–79, 2005. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/dbff/5d797a9a4f68e12a73425f69b719a5937a9b.pdf>>

HENDRIX, D. L. Rapid Extraction and Analysis of Nonstructural Carbohydrates In Plant-Tissues. *Crop Science*, v. 33, p. 1306–1311, 1993.

HIBBERD, C. A. et al. Effect of sorghum grain variety and reconstitution on site and extent of starch and protein digestion in steers. **Journal of animal science**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 702–712, 1985.

HOFFMAN, P. C. et al. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 94, n. 5, p. 2465–2474, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3562>>

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 75, n. 3, p. 852, 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/75/3/852-867/4637334>>

IRELAND-PERRY, R. L.; STALLINGS, C. C. Fecal Consistency as Related to Dietary Composition in Lactating Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 76, n. 4, p. 1074–1082, 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030293774366>>

JORJONG, S. et al. Milk fatty acids as possible biomarkers to early diagnose elevated concentrations of blood plasma nonesterified fatty acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 97, n. 11, p. 7054–7064, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8039>>

KNUDSEN, K. E. B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 319–338, 1997. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840197000096>>. Acesso em: 6 mar. 2022.

KOZLOSKI, V. G. **Metabolismo microbiano ruminal**. 3. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2011.

LOPES, J. C. et al. Type of corn endosperm influences nutrient digestibility in

lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 92, n. 9, p. 4541–4548, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2090>>

MACHADO, R. D. **Universidade Federal Do Paraná Ricardo Dinarti Machado**. 2019. Universidade Federal do Paraná, [s. l.], 2019.

MENDES, I. A. P. **Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite de vacas alimentadas com silagem de grão de milho moído reidratado substituindo milho seco moído do concentrado**. 2013. Universidade Federal de Minas Gerais, [s. l.], 2013.

MOMBACH, M. A. et al. Silage of rehydrated corn grain. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 959–966, 2019. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352019000300959&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352019000300959&tlng=en)>

NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of Digestion of Starch in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows and Its Effect on Milk Yield and Composition. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 74, n. 10, p. 3598–3629, 1991. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78552-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78552-4)>

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2001. Disponível em: <<http://www.nap.edu/catalog/9825>>

NUNES, F. C. et al. Uso de milho processado em dietas de ruminantes: revisão. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. e188963674, 2020. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3674>>

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of Diet Fermentability on Efficiency of Microbial Nitrogen Production in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 86, n. 1, p. 195–207, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73600-5](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73600-5)>

OLIVEIRA, E. R. et al. Effects of exogenous amylolytic enzymes on fermentation, nutritive value, and in vivo digestibility of rehydrated corn silage. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 251, n. November 2018, p. 86–95, 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840118314342>>

OWENS, F.; SODERLUND, S. Ruminal and postruminal starch digestion by cattle. **Pioneer Hi-Bred, a DuPont Business**, [s. l.], p. 1–23, 2007.

PASSINI, R. et al. Digestibilidade de dietas a base de grão úmido de milho ou de



sorgo ensilados. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.], v. 24, p. 1147, 2008. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/2604/1759>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

PEREIRA, D. S. M. **Efeito do tempo de armazenamento da ensilagem do grão de milho reidratado acrescida com enzima amilolítica : ensilagem do grão de milho reidratado acrescida com enzima amilolítica : valor nutricional**. 2020. Universidade Federal da Grande Dourados, [s. l.], 2020.

PEREIRA, K. A. et al. Parâmetros na utilização de silagem de grão úmido de milho na bovinocultura de corte. **Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/622>>

PEREIRA, M. N. et al. Ruminal degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 61, n. 4, p. 358–363, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162004000400002&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162004000400002&lng=en&tlng=en)>

PONCHEKI, J. K. **Beta-Hidroxibutirato E Perfil De Ácidos Graxos Do Leite Bovino No Início Da Lactação: Efeitos Sobre Produção, Reprodução E Sanidade**. 2019. Universidade Federal do Paraná, [s. l.], 2019.

PRIOR, R. L. Lipogenesis and Adipose Tissue Cellularity in Steers Switched from Alfafa Hay to High Concentrate Diets. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 483–492, 1983. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/56/2/483-492/4682952>>

QAMAR, S. A.; ASGHER, M.; BILAL, M. Immobilization of Alkaline Protease From *Bacillus brevis* Using Ca-Alginate Entrapment Strategy for Improved Catalytic Stability, Silver Recovery, and Dehairing Potentialities. **Catalysis Letters**, [s. l.], v. 150, n. 12, p. 3572–3583, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10562-020-03268-y>>

REIS, G. de A. **Processamento mecânico da fração de grãos como estratégia de aumento da inclusão de silagem de milho em dietas de vacas leiteiras**. 2021. Universidade de São Paulo, [s. l.], 2021.

RIBEIRO, C. G. S. et al. Desempenho produtivo e perfil de ácidos graxos do leite

de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de girassol em dietas à base de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 66, n. 5, p. 1513–1521, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/abmvz/a/BVMV5cKtCFRcddxtjMnYS8F/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

SAYLOR, B. A. et al. Effect of microbial inoculation and particle size on fermentation profile, aerobic stability, and ruminal in situ starch degradation of high-moisture corn ensiled for a short period. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 103, n. 1, p. 379–395, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-16831>>

SCHWAB, E. C. et al. Processing and Chop Length Effects in Brown-Midrib Corn Silage on Intake, Digestion, and Milk Production by Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 613–623, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74115-5](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74115-5)>

SILVA, M. R. H. Da et al. <b>Corn grain processing improves chemical composition and fermentative profile of rehydrated silage. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 42564, 2018. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/42564>>

STREETER, M. N. et al. Combinations of High-Moisture Harvested Sorghum Grain and Dry-Rolled Corn: Effects on Site and Extent of Digestion in Beef Heifers. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 67, n. 6, p. 1623, 1989. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/67/6/1623-1633/4631707>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

THEURER, C. B. et al. Invited Review: Summary of Steam-Flaking Corn or Sorghum Grain for Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 82, n. 9, p. 1950–1959, 1999.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)>

VILLOT, C. et al. Combinations of non-invasive indicators to detect dairy cows submitted to high-starch-diet challenge. **Animal**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 388–398, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751731119001629>>

VLAEMINCK, B. et al. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 131, n. 3–4, p. 389–417, 2006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840106002707>>

WHEELER, W. E.; NOLLER, C. H. Gastrointestinal tract pH and starch in feces of ruminants. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 131–135, 1977.

YOUNG, K. M. et al. Effect of exogenous protease enzymes on the fermentation and nutritive value of corn silage. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 95, n. 11, p. 6687–6694, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5628>>

YU, P. et al. Effects of Ground, Steam-Flaked, and Steam-Rolled Corn Grains on Performance of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 81, n. 3, p. 777–783, 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030298756346>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

## ANEXO I



Comissão de Ética no Uso de Animais

da Universidade Estadual de Maringá

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM SILAGEM DE GRÃO ÚMIDO DE MILHO REIDRATADO COM E SEM ADIÇÃO DE PROTEASE.", protocolada sob o CEUA nº 2106091020 (ID 002832), sob a responsabilidade de **Jefferson Rodrigues Gandra** e equipe; *Rafael Meier de Mattos* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) na reunião de 16/11/2020.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE PERFORMANCE OF MILK COWS FEEDED WITH REHYDRATED GROUND HI MOIST CORN GRAIN WITH AND WITHOUT PROTEASE ADDITION.", utilizing 24 Bovines (24 females), protocol number CEUA 2106091020 (ID 002832), under the responsibility of **Jefferson Rodrigues Gandra** and team; *Rafael Meier de Mattos* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the State University of Maringá (CEUA/UEM) in the meeting of 11/16/2020.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [01/2021](#) a [03/2021](#)

Área: [Dmv-Medicina Veterinária](#)

Origem: [Animais de Proprietários](#)

Espécie: [Bovinos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [30 a 60 meses](#)

N: [24](#)

Linhagem: [Mestiça](#)

Peso: [275 a 786 kg](#)

Local do experimento: O experimento será realizado em um estabelecimento rural de fins comerciais no município de Icaraíma/PR, de propriedade do Sr. José Carlos Bortoli, localizada ao km 10 da Estrada Porto Camargo.

Maringá, 18 de novembro de 2020

Prof. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos  
Coordenadora da CEUA/UEM  
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dra. Erika Seki Kioshima Cótica  
Coordenadora Adjunta da CEUA/UEM  
Universidade Estadual de Maringá