

**Universidade de São Paulo**  
**Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**  
LZT- Departamento de Zootecnia  
0111000 – Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Agrônômica

**Efeito da inoculação de *Megasphaera elsdenii*, NCIMB 41125 em  
silagem de milho utilizada em dieta de crescimento em bovinos**

**Gabriel Porcel Zylberlicht**

NºUSP: 8970251  
gabriel.zylberlicht@usp.br

**Piracicaba**  
**Junho, 2019**

**Gabriel Porcel Zylberlicht**

**Efeito da inoculação de *Megasphaera elsdenii*, NCIMB 41125 em silagem de milho utilizada em dieta de crescimento em bovinos**

Orientador: Prof. Dr. Flavio Augusto Portela Santos  
(ESALQ/USP).

Trabalho de conclusão de curso apresentado para  
obtenção do título de Engenheiro Agrônomo na  
Universidade de São Paulo, Escola Superior de  
Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Piracicaba  
Junho, 2019**

**Gabriel Porcel Zylberlicht**

**Efeito da inoculação de *Megasphaera elsdenii*, NCIMB 41125 em silagem de milho utilizada em dieta de crescimento em bovinos**

Orientador: Prof. Dr. Flavio Augusto Portela Santos (ESALQ/USP).

Trabalho de conclusão de curso apresentado para  
Obtenção do título de Engenheiro Agrônomo na

Universidade de São Paulo,  
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz.

Departamento de Zootecnia

Data da defesa: 01 de julho de 2019

Resultado:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires \_\_\_\_\_,

Eng. Agr. Dr. Murillo Alves Porto Meschiatti \_\_\_\_\_,

Eng. Agr. Dr. Gustavo Gonçalves de Souza Salvat \_\_\_\_\_.

**Piracicaba  
Junho, 2019**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>6</b>
<b>ÍNDICE DE QUADROS, TABELAS E GRÁFICOS</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
1.1 CULTURA DO MILHO ( <i>ZEAMAYS</i> )	11
1.2 SILAGEM	11
1.3 <i>MEGASPHAERA</i> ELSDENII	19
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>23</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>23</b>
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DA SILAGEM	23
3.2 TRATAMENTOS	23
3.3 ANÁLISE DA SILAGEM	24
3.3.1 MATÉRIA SECA	25
3.4 TESTE EM ANIMAIS	25
3.5 INSTALAÇÕES	26
3.5.1 PESAGEM E PROCESSAMENTO	26
3.5.2 BAIAS	27
3.5.3 ILUMINAÇÃO E VENTILAÇÃO	28
3.5.4 ALIMENTAÇÃO E HIDRATAÇÃO	28
3.5.5 DIETA DE ADAPTAÇÃO	28
3.5.6 DIETA DO EXPERIMENTO	29
3.5.7 PREPARO E FORNECIMENTO DA DIETA	29
3.5.8 ADMINISTRAÇÃO DO TRATAMENTO	30
3.5.9 AMOSTRAGEM DA DIETA	31
3.5.10 CUIDADOS COM A SAÚDE ANIMAL	31
3.5.11 PESAGEM DO ANIMAL	31
3.5.12 CONSUMO DA DIETA	31
3.5.13 LEITURA E MANUTENÇÃO DE COCHO:	31
3.5.14 PARA O CÁLCULO DO CONSUMO DE MATÉRIA SECA FOI UTILIZADA A SEGUINTE FORMULA:	32
3.5.15 PERFORMANCE DE CRESCIMENTO	32
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>40</b>



## RESUMO

### **Efeito da inoculação de *Megasphaera elsdenii*, NCIMB 41125 em silagem de milho utilizada em dieta de crescimento em bovinos**

Visto a grande importância da silagem como fonte de fibra e energia para bovinos o presente trabalho avaliou a utilização da *Megasphaera elsdenii* como inoculante na dosagem de 50mL/ton em 392 novillos divididos em 14 blocos. Após um período de 122 dias com dieta basicamente de silagem, os animais foram avaliados em questão de ganho de peso, consumo de matéria seca e conversão alimentar. Os dados coletados demostram que não houve diferença significativa para os parâmetros avaliados, todavia quando os mesmos animais foram utilizados em outro experimento com dieta de terminação, os que anteriormente receberam *Megasphaera elsdenii* apresentaram ser vantajosas em termos econômicos em relação ao controle.

Palavras-chave: Silagem de milho, inoculante, *Megasphaera elsdenii*, dieta de adaptação.

## ABSTRACT

### Effect of cattle fed of corn silage inoculated with *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125

Considering the importance of silage as a source of fiber and energy for cattle, the present study evaluated using of *Megasphaera elsdenii* as inoculant dosage 50mL / ton in 392 steers divided into 14 blocks. After a period of 122 days with basically silage diet, the animals were evaluated on body weight, dry matter intake and feed conversion. The data collected showed that there was no significant difference for the evaluated parameters, however when the same animals were used in another experiment with a finished diet, those who previously received *Megasphaera elsdenii* presented economic advantages over the control.

Key words: Corn silage, inoculant *Megasphaera elsdenii*, adaptation diet.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Representação de um silo trincheira _____	14
<b>Figura 2</b> Silo em superfície _____	15
<b>Figura 3</b> Silo em Torre. _____	16
<b>Figura 4</b> Máquina empacotadora de silagem tipo bag _____	17
<b>Figura 5</b> Diferença entre bactéria gran-positiva e gran-negativa. _____	20
<b>Figura 6</b> Representação da posição dos silos _____	24
<b>Figura 7</b> Processo de amostragem. _____	24
<b>Figura 8</b> Animais após desembarque no confinamento _____	25
<b>Figura 9</b> Tronco hidráulico utilizado para pesagem inicial dos animais _____	27
<b>Figura 10</b> Vista superior das baias utilizadas durante o experimento _____	28
<b>Figura 11</b> Animais durante o período de adaptação _____	29
<b>Figura 12</b> Caminhão distribuidor e misturador utilizado para alimentação dos animais _____	30
<b>Figura 13</b> Processo de carregamento da silagem _____	30
<b>Figura 14</b> Leitura de cocho auxiliada pelo Prof. Dr. Diogo Flery, gerente do BCRC _____	32

## ÍNDICE DE QUADROS, TABELAS E GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> média do consumo de matéria seca ao longo de todo experimento.	34
<b>Gráfico 2</b> Valor das carcaças _____	38
<b>Tabela 1</b> População média de microrganismos em matétia-prima _____	19
<b>Tabela 2</b> Dados de ganho médio diário, consumo de matéria seca e eficiência obtidos após o termino do experimento. _____	33
<b>Tabela 3</b> Resultado do agrupamento de Tukey para as médias obtidas do experimento. _____	33
<b>Tabela 4</b> <i>Análise dos ingredientes utilizados durante o experimento</i> _____	35
<b>Tabela 5</b> Resultados de ganho de peso na dieta de terminação. _____	37
<b>Tabela 6</b> Resultado das carcaças _____	37

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

USDA- United State Department of Agricultura

USP- Universidade de São Paulo

YOY- Year over year (indicador ano a ano)

MS- Matéria Seca

ESALQ- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

BCRC- Beef Cattle Research Center

KSU- Kansas State University

CMS- Consumo de matéria seca

GMD- Ganho médio diário

EF- Eficiência

M.e- ***Megasphaera elsdenii***



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Cultura do milho (*Zea mays*)

O milho é uma gramínea tropical da família Poaceae de metabolismo C4. Registros indicam que essa planta foi cultivada primeiramente no México há mais de 7.000 anos e hoje é a planta mais cultivada no mundo. A estimativa da safra 17/18 foi de 1.089,74 milhões de ton sendo que comparada com a safra de 2017/2018 o crescimento da produção foi de 31,3% (USDA, 2018).

No ranking mundial de produção, o Brasil fica atrás apenas de Estados Unidos e China. Estima-se que a safra 2018/2019 seja recorde passando o patamar de 100 milhões de toneladas, +18 milhões de toneladas YoY e área cultivada também recorde de 17,5 milhões de hectares, +16%YoY (USDA, 2019).

O estado brasileiro com maior produção é o Mato Grosso, com 23% da safra nacional de 2015/2016, seguido por Paraná (21,8%), Goiás (9,7%) e Mato Grosso do Sul (9,4%). Na escala de região, o maior produtor é o Centro-Oeste com 42,5% da safra sendo que a região Sul produziu 34,7%, Sudeste 14,7%, Nordeste 5,2% e Norte 3,0% (CONAB, 2016).

O principal destino da produção do milho é a nutrição animal, correspondendo à 64% do total dos insumos utilizados na dieta principalmente como fonte de energia de aves (65%), de suínos (23%) e na produção de leite. O grão também é muito utilizado na alimentação humana, tanto *in natura* como em farinha, polenta, óleo, pipoca, fubá etc. Na produção industrial, seu amido pode ser utilizado como base para produção de produtos de limpeza, plásticos, álcool, tintas, produção de energia, papel, açúcar entre outros, assim, justificando o consumo mundial superior a 1.000 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

### 1.2 Silagem

Um dos principais métodos para conservação da produção de forrageiras com destino a alimentação de ruminantes durante o período seco do ano, ou como nos EUA durante o inverno e, também, um dos métodos mais antigos de

armazenamento com pequenas perdas de qualidade é a ensilagem (Zeoula, 2003).

Para que esse método de conservação seja eficiente, a produção vegetal deve seguir uma série de pré-requisitos como alta produção de matéria-seca por unidade de área e que o produto seja um alimento de alta qualidade para os animais (Pimentel, 1998).

Entre todas as culturas que podem ser ensiladas, o milho é a cultura em destaque devido seu valor nutricional, teor de umidade e açúcares adequados para a fermentação láctica, elevada produção de massa e de energia e possibilidade de utilizar os diferentes híbridos lançados de maneira rápida no mercado. (Paziani, 2009). Segundo as observações de Nussio et al. (1991) entre as forrageiras que podem ser ensiladas, a preferência dos produtores pelo milho ocorre pela facilidade de formação das lavouras e a alta taxa de aceitabilidade dos animais pelo alimento.

De acordo com Pinto e Millen (2016), a silagem de milho é o principal alimento volumoso utilizado em dietas para bovinos terminados em confinamento. A inclusão de volumoso em dietas de confinamento com alta energia tem por finalidade garantir a saúde ruminal do bovino (evitar acidose) e estimular um maior consumo da dieta. Bovinos recriados em pastagens têm que passar por protocolo de adaptação (dietas intermediárias) antes de receberem a dieta final com alto teor de concentrado, com o objetivo de evitar a ocorrência de acidose.

O início da produção da silagem ocorre na escolha do cultivar de milho que seja melhor adaptado para as características de solo e clima local além da escolha de um cultivar que seja propício para ser ensilado. Segundo Hunter (1978) a produção de um alimento de qualidade não está 100% relacionado com a qualidade do grão, mas sim, se no caso for realizado silagem de planta inteira, a parte não constituída de grãos também tenha uma ótima qualidade.

De acordo com Jeremtchuk et al. (2005) os maiores ganhos de produtividade estão diretamente relacionados com o casamento entre a escolha do híbrido de milho que apresente adaptação as condições locais e sua produtividade.

O processo de colheita da silagem depende principalmente de dois fatores: umidade da cultura e o tipo de colhedora utilizada. Em relação a umidade, se o milho for colhido com alto teor de umidade, eleva a probabilidade de fermentação indesejável e produção de efluentes; se o milho for colhido tardio, ou seja, baixo



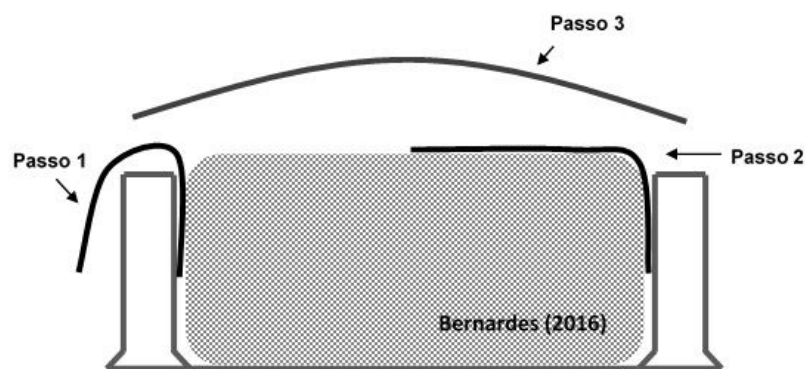
teor de umidade, podemos ter inibição bacteriana, menor produção de ácidos (alto pH), baixa densidade e deterioração aeróbica. (Bernardes & Weinberg, 2013).

Visando evitar os problemas citados acima, a literatura registra como ponto ideal para a colheita do milho quando o grão atinge o estágio farináceo duro com teores de MS variando entre 33-35%. Consequentemente, a planta colhida nesse período apresentará as melhores condições para conservação e máxima ingestão para os bovinos (Zeoula, 2003).

Para um maior período de validade das forragens os silos precisam basicamente evitar a entrada de água e oxigênio. Os métodos existentes variam muito de acordo com o espaço que a fazenda possui para armazenagem, condições locais, quantidade de capital a ser investido, entre outros (Savoie & Jofriet, 2003).

Abaixo estão algumas opções e formatos de silos que podem ser utilizados:

-Silo Trincheira: São estruturas construídas por duas ou até 3 paredes de concreto (países da América do Norte e Europa podem ser comprados pré-fabricados). Mesmo que não recomendado é possível encontrar paredes de terra, todavia a silagem em contato com este tipo de superfície não deve ser utilizada devido o risco de contaminação. O silo é abastecido por caminhões basculantes ou vagões distribuidores e para compactação geralmente são utilizados tratores que ficam constantemente se locomovendo sendo que é recomendado não distribuir mais de 20cm de material antes de compactar. Todo processo de produção do silo é praticamente uma corrida contra o relógio visto que o tempo de contato entre o material e o oxigênio deve ser mínimo sendo que no final, a densidade do silo pode atingir  $300\text{Kg/m}^3$  (Bernardes & Weinberg, 2013).



**Figura 1** Representação de um silo trincheira  
**Fonte:** (Bernardes, 2016)

Após a compactação da silagem, deve-se cobrir todo material com alguma manta impermeável visando evitar a entrada de água e oxigênio lembrando que a silagem deverá ser coberta na parte superior e nas laterais. A vedação é uma parte crucial para a boa qualidade da forragem é ela representa apenas 2% do custo do processo. (Bernardes, 2016).

Esse tipo de processo geralmente apresenta maiores perdas por conta da vedação e por permitir a passagem de oxigênio e água. Comparando a zona central do silo com a lateral e parte superior, as perdas são no mínimo 10x maiores. (Ashbell & Kashanchi, 1987)

-Silo em superfície: Esse tipo de armazenamento é geralmente utilizado para armazenagem de grandes quantidades de material. É muito comum encontrar em grandes confinamentos, silagem armazenada dessa forma ou por ser usada como volumoso ou como reserva caso ocorra falta matéria-prima no mercado. Nesse processo utiliza-se ou não uma lona plástica para evitar o contato do material com o solo mas, diferentemente do processo anterior, não há paredes de contenção. Os caminhões ou vagões formam um amontoado de material sem ultrapassar os 20cm de altura, antes da compactação por tratores e no final, um lona com algo pesado por cima da silagem é utilizado para proteger contra chuva e oxigênio. Por esse tipo de silo ser altamente dependente da lona, as perdas podem ultrapassar  $60\text{Kg/m}^3$ . (Bernardes & Weinberg, 2013).



**Figura 2** Silo em superfície  
**Fonte:** Revista Milkpoint, 2011

-Silos Torre: Muitas vezes a fazenda ou campo experimental não dispõe de uma área grande o suficiente para armazenagem por silo trincheira ou em superfície; assim é necessário verticalizar o processo.

Os silos torre podem ser construídos sob a terra ou acima dela, utilizando geralmente concreto ou aço que consigam suportar o peso do material. O abastecimento pode ser realizado manualmente ou automaticamente por bombas que depositam na parte superior a massa picada. A utilização pode ocorrer pela base ou pelo topo, também de maneira manual ou automática a partir da raspagem da silagem. Nesse tipo de armazenagem, alguns problemas em razão da acidez da silagem ou liberação de material de contenção podem causar danos à estrutura e contaminação do alimento. (Bernardes & Weinberg, 2013).

Por conta da alta densidade da silagem, que pode ultrapassar em alguns casos até  $1.000\text{Kg/m}^3$  é possível que ocorra produção de efluentes que causam a perda de qualidade do material. Assim, com base na altura e diâmetro do silo, muitas vezes o material deve ser colhido com maior teor de MS. (Savoe: Jofriet, 2003).



**Figura 3** Silo em Torre.

**Fonte:** Revista Milkpoint, 2002

-Silo em Bag ou Tubular horizontal:

Esse tipo de silagem requer um tipo especial de máquina que consegue empacotar toda silagem picada envolvida em uma lona de alta resistência. O diâmetro pode variar de acordo com a necessidade e espaço do produtor; todavia os tamanhos mais encontrados são entre 30-90m de comprimento e 1,8 a 3,6m de diâmetro. (Bernardes & Weinberg, 2013).

Em um dos possíveis métodos para estocagem do material, o caminhão basculante encosta na máquina empacotadora e por uma esteira coloca a silagem dentro do bag.



**Figura 4** Máquina empacotadora de silagem tipo bag  
**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017).

O silo bag apresenta inúmeros aspectos positivos como:

- Rapidez na anaerobiose devido ao curto período de tempo em que o material picado fica em contato com o ar o que permite maior velocidade para o início da fermentação;
- O processo pode ser feito em locais mais próximos de onde a silagem será utilizada reduzindo gastos com transporte e tempo, entretendo o local deve ser o mais plano possível;
- Por ser possível na mesma máquina confeccionar diferentes dimensões dos silos atendendo as demandas e espaços mais variados;
- Menor utilização de plástico por silagem estocada quando comparado com o método horizontal e silo-fardo;
- Menor possibilidade de exposição do material com ar atmosférico. Todavia, dentre todos os processos, este é o que apresenta maior lentidão para confecção e alto preço dos maquinários. (Bernardes & Weinberg, 2013).

O tamanho da partícula e altura da colheita influenciam diretamente no grau de compactação da silagem. Assim, quanto menor o tamanho da partícula, melhor a compactação. (Nussio, 1995). Todo processo de produção do silo é praticamente uma corrida contra o relógio visto que o tempo de contato entre o

material e o oxigênio deve ser mínimo. (Muck & Holmes, 2000). O processo de ensilagem consiste na fermentação láctica do material orgânico resultando no aumento de ácido láctico e outros ácidos orgânicos e conseqüentemente na queda do pH. Outro fator é a anaerobiose, o que junto com o baixo pH, diminuem a taxa de degradação do material orgânico. Esses fatores são fundamentais para a conservação da forragem e sua qualidade nutritiva e evitar microrganismos indesejáveis como enterobactérias, clostrídeos, leveduras e mofo. (RONALD, 1994).

Segundo T. Bernardes, as principais bactérias que encontramos na silagem são:

Bactérias ácido lácticas (BAL) que podem ser divididas entre homo e heterofermentativas. Ambas são favorecidas em ambientes com matéria seca maior que 30% e anaerobiose e precisam de monossacarídeos disponíveis. As homo metabolizam açúcares em ácido láctico e as heterofermentativas em ácido láctico mais ácido acético e CO<sub>2</sub>;

Eterobactérias são por definição anaeróbicas facultativas sendo que a grande maioria não é patogênica porém podem servir como indicadores de qualidade higiênica. São favoráveis em ambientes com MS abaixo de 30%, pH acima de 4,0 e precisam de oxigênio. Em seu metabolismo elas transformam monossacarídeos em ácido acético, fórmico e álcool;

Clostrídeos são bactérias esporulantes e anaeróbicas muitas vezes encontradas em fezes de animais. No metabolismo elas podem utilizar o ácido láctico e formar ácido butírico e CO<sub>2</sub>;

Leveduras são favoráveis em ambiente com alto teor de açúcar disponível não importando a presença de O<sub>2</sub> e não possuem sensibilidade ao baixo pH;

Fungos são responsáveis por utilizar carboidratos para liberação de toxinas. Geralmente encontrados nas zonas periféricas do silo.



A tabela 1 fornece o número médio da população de alguns grupos de microrganismos que podem ser encontrados nas matérias primas para silagem.

**Tabela 1** População média de microrganismos em matéria-prima

Grupos	População (ufc/g matéria prima)
Bactérias ácido láctica	10-1.000.000
Enterobactérias	1000-1.000.000
Leveduras	1000-100.000
Fungos filamentosos	1000-10.000
Clostrídeos	100-1000
Bacilos	100-1000
Bactérias ácido acética	100-1000
Bactérias ácido propiônica	10-100

**Fonte:** (T. Bernardes, 2019)

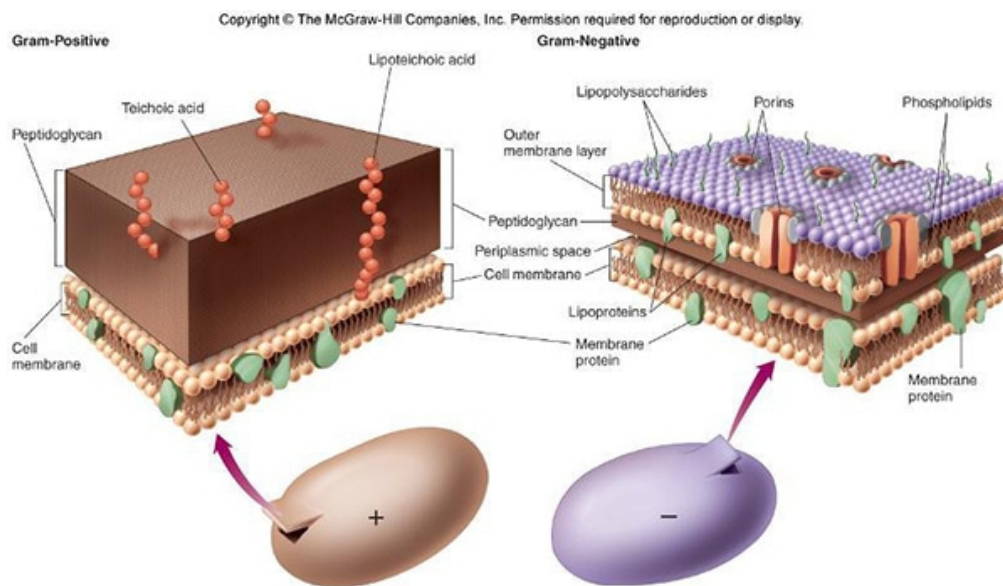
Comumente se utilizam aditivos visando corrigir características que são indesejáveis ou não estão presentes na matéria-prima. Eles são classificados de acordo com sua função, como por exemplo estimuladores de fermentação (bactérias homo fermentativas) como as bactérias do gênero *Streptococcus* inibidores de deterioração aeróbia (homo, hetero e combinação entre ambos) como ***Lactobacillus*** buheri e absorventes de umidade, por exemplo polpa cítrica (T. Bernardes, 2019).

### 1.3 *Megasphaera elsdenii*

A ***Megasphaera elsdenii***, anteriormente conhecida como *Peptostreptococcus elsdenii*, é uma bactéria que sobrevive apenas em ambiente com baixíssima concentração de oxigênio (anaeróbica) é normalmente encontrada no ambiente ruminal de bovinos e ovinos, todavia, também, podemos encontrar colônias dentro do sistema digestório de humanos e suínos. (Marounek, 1989).

***Megasphaera elsdenii*** compreende ao grupo de bactérias gran-negativas, ou seja, possuem uma parede celular menos espessa composta por peptidoglicano, lipoproteínas, membrana externa e lipopolissacarídeos que permitem uma menor aderência de substâncias na parede da bactéria

fornecendo, por exemplo resistência a alguns antibióticos. (Estrela & Pécora, 1997)



**Figura 5** Diferença entre bactéria gran-positiva e gran-negativa.

**Fonte:** <https://microbiologyinfo.com/differences-between-gram-positive-and-gram-negative-bacteria/>.

***Megasphaera elsdenii*** é o principal microrganismo consumidor de ácido láctico produzido no rúmen de bovinos de corte e leite, utilizando de 0,65% a 0,95% do lactato disponível no rúmen (Counotte et al., 1981).

Já é conhecido que para uma boa produção animal é preciso que ele esteja em boas condições de saúde para podermos atingir o máximo de deposição de proteína e gordura, e no caso de vacas, produção de leite. Um dos problemas que costumamos ver em confinamentos é a acidose. Essa desordem ruminal pode apresentar danos à produção, saúde e dependendo do caso até a morte do animal. Ela ocorre principalmente devido a ingestão excessiva e repentina de carboidratos, principalmente amido, presente nas dietas com alta concentração de milho, acarretando um acúmulo de ácidos orgânicos, principalmente ácido láctico no rúmen devido ao aumento de produtores de ácidos lácticos em relação aos consumidores (Dawson & Allison, 1988).

Uma das maneiras de reduzir o risco de acidose na fase inicial de adaptação dos animais recém chegados de pastagens é aplicação de NCIMB



41125 *M.elsdenii* na dieta do animal. Essa prática também permite reduzir a duração do período de adaptação (Miller,2013).

Henning, et al (2009) testou o que aconteceria se colocássemos diferentes bactérias consumidoras de ácido láctico em um animal fistulado que apresentava acidose. Após um rigoroso teste de separação das bactérias ele conseguiu notar uma queda de pH ruminal de alguns tipos de bactérias, entre elas a ***Megasphaera elsdenii*** concluindo que essa bactéria pode ser muito eficiente em controle de acidose.

Drouillard, et al (2012) por outro lado, também pensando na capacidade da ***Megasphaera elsdenii*** em reduzir a concentração de ácidos lácticos no rúmen testou a eficiência do uso da bactéria na transição de uma dieta de adaptação para uma dieta de terminação aplicando o produto via oral visando um melhor rendimento de carcaça e redução no tempo da dieta de adaptação. No experimento com 40 novilhos foram aplicados 200 ml, sendo que metade recebeu 5 dietas de adaptação totalizando 17 dias e a outra metade 3 dietas de adaptação em apenas 8 dias, sendo que para cada dieta aumentou-se gradualmente a porcentagem de concentrado. Após 63 dias, na dieta final os animais foram abatidos e se constatou que os animais não apresentaram grande diferença em composição corporal e nem ganho de peso, todavia apresentaram melhor custo-benefício.

Henning, et al (2011) testou a eficiência de ***Megasphaera elsdenii*** em vacas durante o pós-parto e período de adaptação. Em seu experimento, 60 vacas foram submetidas a dietas variando de 60% a 70% de concentrado sendo que as vacas com maior potencial fizeram parte de outro bloco dentro do experimento. Entre o parto e 80 dias pós-parto foram observados os teores de gordura, proteína no leite e escore corporal. Os resultados levantados indicaram que as vacas não foram afetadas quanto ao consumo de matéria-seca nem teor de proteína. Todavia para as vacas de maior produção, as que receberam a dosagem de 250ml de ***Megasphaera elsdenii*** apresentaram maior teor de gordura nas dietas com 60% de concentrado. Assim seu benefício se deu pelo controle de acidose nos animais mais produtores.

Na literatura os principais trabalhos, como os citados anteriormente, avaliaram e comprovaram a eficiência da M.e no tratamento e prevenção de acidose e um produto que resulta em ganhos econômicos, no entanto a

aplicação do aditivo NCIMB 41125 *M.elsdenii* durante o processo de ensilagem da planta de milho e seu possível efeito positivo no desempenho de bovinos confinados com dietas contendo essa silagem como alimento volumoso, não tem sido testada.

## 2. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar se animais tratados com silagem inoculada com ***Megasphaera elsdenii*** apresentam melhor ganho de peso e conversão alimentar do que os animais tratados com silagem sem o inoculante assim testando se a silagem também pode ser utilizada como método de aplicação do produto comercial contendo ***Megasphaera elsdenii***

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

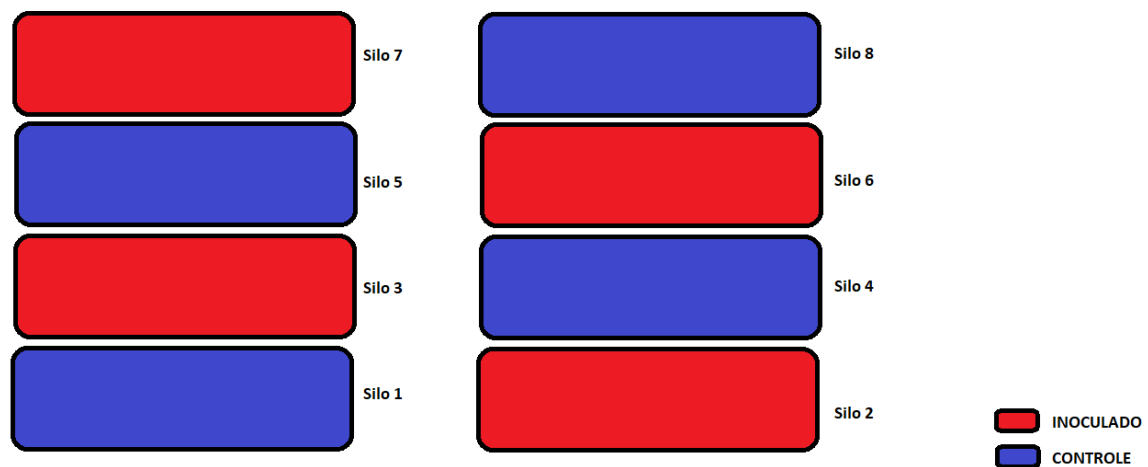
### 3.1 Delineamento experimental da silagem

Foi adotado o delineamento em blocos casualizados (DBC) com dois tratamentos e quatro repetições cada. Os tratamentos consistem em um Controle (sem inoculante) e inoculado (***Megasphaera elsdenii***). Os silos foram instalados na unidade experimental da Kansas State University, a aproximadamente 100 metros do confinamento. Os silos foram abertos após um tempo mínimo de 120 dias de fermentação.

### 3.2 Tratamentos

Ambos os tratamentos foram originados da mesma variedade de milho e armazenados em silos do tipo Bag com 6 metros de diâmetro cada contendo 100-125 toneladas de silagem fresca por Bag. A plantação foi colhida quando apresentou aproximadamente 35% de matéria seca. Os tratamentos foram divididos entre controle T1 e inoculado T2. Silagem de T1 não recebeu nenhum tipo de inoculante e para T2 foi utilizado uma cultura fresca de ***Megasphaera elsdenii*** NCIMB 41125 via aerossol após a trituração da planta de milho. Foram aplicados 50mL/ton da cultura contendo  $1 \times 10^9$  UFC/mL

A figura 6 representa o croqui de como ficaram dispostos os silos na área experimental.



**Figura 6** Representação da posição dos silos

**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2019).

### 3.3 Análise da Silagem

Após o período mínimo de 120 dias de fermentação, foram colhidas 12 sub-amostras de pontos aleatórios com o auxílio de uma sonda. As sub-amostras foram homogeneizadas e armazenadas em sacos plásticos e em congeladores a -20°C. Após a amostragem, os furos originados pela operação, foram fechados o mais rápido possível com fita adesiva de alta resistência para propiciar o mínimo contato com oxigênio e umidade.



**Figura 7** Processo de amostragem.

**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017)

### 3.3.1 Matéria seca

A cada 3 dias, uma amostra de cada silo foi retirada e secada em estufa com circulação forçada a 105°C para alterar, se fosse necessário, as proporções de silagem na dieta. A média desses valores foi considerada para determinar a matéria seca de cada bag.

### 3.4 Teste em animais

Foram utilizados bovinos de corte com peso inicial entre 205Kg e 350Kg, castrados de raça predominantemente europeia, Angus e Hereford.



**Figura 8** Animais após desembarque no confinamento  
**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017)

Através de fontes comerciais, a BCRC comprou um lote de 530 novilhos com peso inicial entre 205Kg e 350Kg, castrados, raça predominante europeia, Angus e Hereford destinados exclusivamente para experimentação.

Após o desembarque os animais passaram pela triagem que consistiu em pesagem individual, remoção de todos os brincos, identificação individual por numeração em brinco novos, vacinação contra patógenos virais e clostridiais, tratamento para parasitas internos e externos, implantes Tylan Componente TE-200 (Elanco Animal Health) e para critério de controle, cada numeração foi

relacionada com características individuais como cor de pelagem, cor de narina, manchas na cabeça e chifres.

Com os dados levantados dos animais, um grupo de 392 indivíduos com características corporais próximas foram selecionados para fazerem parte do experimento, assim excluindo principalmente os novilhos que apresentaram comportamento indesejado, doenças, fraqueza e grande discrepância em peso.

Antes do início do experimento, todos os animais já divididos em blocos passaram por um período de adaptação de 10 dias no confinamento consumindo basicamente feno de alfafa e acesso livre aos bebedouros.

Caso algum novilho apresentasse algum critério que poderia interferir no resultado do experimento como lesão, doença, um veterinário da KSU era chamado para confirmar os sintomas e se ele julgasse necessário o animal era transferido para baias individuais até o final do tratamento ou era excluído do experimento.

No experimento um animal veio a óbito pois ficou preso na cerca, assim todo protocolo pré-determinado na KSU foi seguido passando o animal por biopsia para determinar o horário e causa da morte por um veterinário também indicado pela Kansas State University.

### 3.5 Instalações

#### 3.5.1 Pesagem e processamento

Para uma correta divisão em Blocos, os animais foram pesados individualmente em um tronco individual hidráulico, com células de carga eletrônica



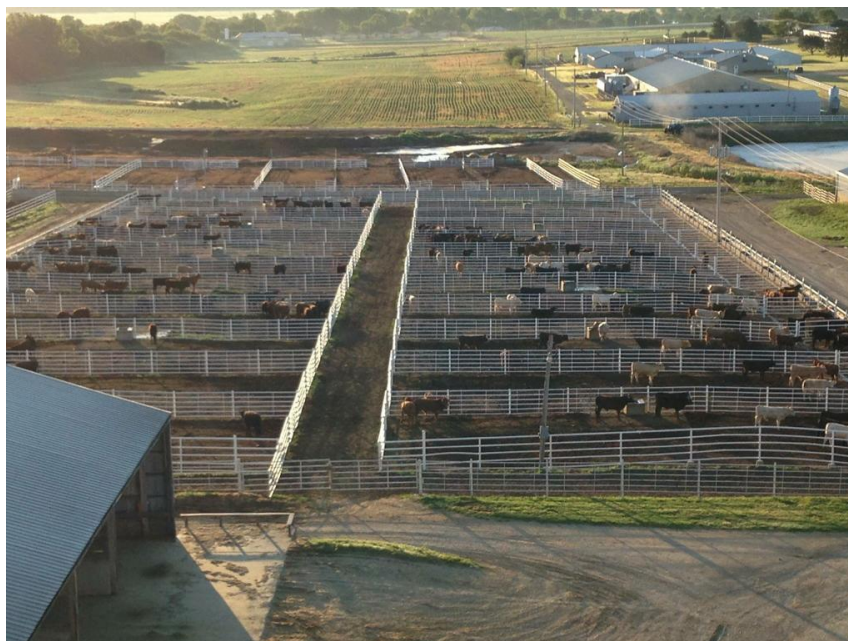
**Figura 9** Tronco hidráulico utilizado para pesagem inicial dos animais  
**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017)

Para as pesagens de manutenção a cada duas semanas e pesagem final, foi utilizada uma balança coletiva com capacidade para, aproximadamente, 10 animais grandes.

### 3.5.2 Baías

Foram utilizadas baias de terra batida, com área de 11m x 45m cada, possibilitando aproximadamente 23m<sup>2</sup> por animal, contendo cocho com 9m lineares de comprimento, ou seja, 0,5m de cocho por animal. Bebedouros automáticos foram posicionados de maneira a abastecer 2 baias cada.





**Figura 10** Vista superior das baias utilizadas durante o experimento  
**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017)

#### 3.5.3 Iluminação e ventilação

As baias não possuíam cobertura e durante o experimento não foi utilizada nenhuma iluminação artificial ou mecanismo de ventilação.

#### 3.5.4 Alimentação e hidratação

Os animais tiveram acesso *ad libitum* à alimentação e o “trato” foi uma vez ao dia no período da manhã durante todo experimento. Diariamente no início do dia foram efetuadas leituras de cocho com o objetivo de manter sobra mínima de alimento pela manhã. Os animais também tiveram livre acesso a água, com bebedouros automáticos que foram checados todos os dias.

#### 3.5.5 Dieta de adaptação

As dietas foram compostas por feno de alfafa, silagem de milho, glúten úmido de milho e suplementos. O balanço da dieta foi calculado para se obter 30% de concentrado e 70% de volumoso.





**Figura 11** Animais durante o período de adaptação  
**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017)

#### 3.5.6 Dieta do experimento

No primeiro dia do experimento, a dieta foi alterada para 70% de silagem de milho e 30% de concentrado sendo que a única diferença entre os tratamentos foi o tipo de silagem (Controle vs. Inoculada). A formulação foi em base de matéria seca para 12-13% proteína,  $\geq 0,25\%$  fósforo,  $\geq 0,65\%$  cálcio,  $\geq 0,65\%$  potássio e 33g/ton de monensina.

#### 3.5.7 Preparo e fornecimento da dieta

As dietas foram preparadas uma vez por dia de maneira a servir diariamente o alimento fresco e sempre no mesmo horário. Para o preparo foi utilizado um caminhão distribuidor e misturador Roto-Mix, modelo 620-16XD, equipado com balança Rice Lake Weighing System RModel IQ+355-2A (número de série 115673) checada e calibrada semanalmente.



**Figura 12** Caminhão distribuidor e misturador utilizado para alimentação dos animais

**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017)

#### 3.5.8 Administração do tratamento

As silagens foram adicionadas, primeiramente, no caminhão misturador, seguido pelo concentrado e suplemento mineral, e com um tempo de mistura de 3 minutos.



**Figura 13** Processo de carregamento da silagem

**Fonte:** (Lucas Dias, 2017)

### 3.5.9 Amostragem da dieta

Semanalmente, amostras da dieta foram coletadas e armazenadas em câmara fria para futuras análises. Também foram coletadas amostras semanalmente para análise de matéria seca.

### 3.5.10 Cuidados com a saúde animal

Diariamente os animais eram checados e caso algum animal apresentasse sintoma de doença ou lesão era classificado e medicado se necessário. Todo procedimento era informado para o veterinário da Universidade e caso fosse necessária uma melhor avaliação, o mesmo era chamado para checar o animal. Todos os medicamentos utilizados e procedimentos eram adicionados na ficha do animal visando evitar repetição de procedimentos.

### 3.5.11 Pesagem do animal

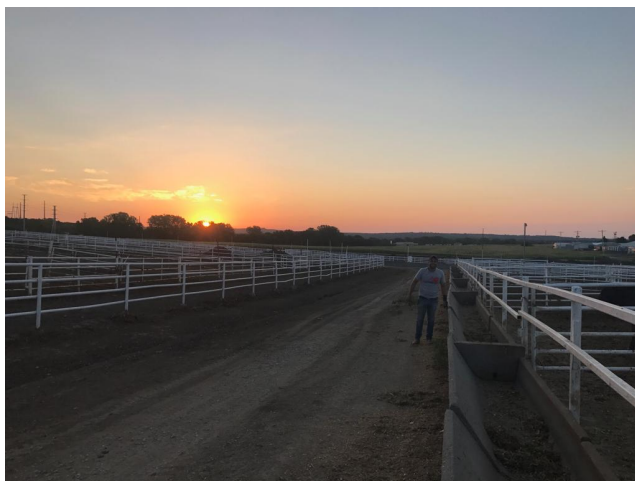
A pesagem dos animais foi realizada utilizando uma balança Rice Lake Weighing System, modelo IQ+355-2A (número de serie 119394). Antes de quaisquer pesagens, a balança era checada e se necessário calibrada.

### 3.5.12 Consumo da dieta

A partir do dia 1 do experimento, os animais foram alimentados diariamente e ininterruptamente até o final do experimento. O peso do “trato” era diariamente gravado no sistema e no arquivo do experimento.

### 3.5.13 Leitura e manutenção de cocho:

Diariamente antes do “trato” foram feitas leituras de cocho visando ajustar a dieta para não sobrar e não faltar alimento. Também nos finais dos dias foram efetuados o score de cocho para analisar as baias de animais que consumiram a dieta muito rápido.



**Figura 14** Leitura de cocho auxiliada pelo Prof. Dr. Diogo Flery, gerente do BCRC

**Fonte:** (Gabriel Zylberlicht, 2017)

Dependendo da chuva ou da quantidade de sobra, os cochos eram limpos e toda a sobra retirada era pesada e analisada para matéria seca. Durante as pesagens de manutenção e da pesagem final, todos os cochos foram limpos e as sobras analisadas para matéria seca.

3.5.14 Para o cálculo do consumo de matéria seca foi utilizada a seguinte formula:

$$\text{CMS} = \frac{(\text{Total tratado}) \times (\% \text{MS}) - (\text{remanescente total no cocho}) \times (\% \text{MS})}{\text{Número de animais}}$$

#### 3.5.15 Performance de crescimento

O Ganho médio diário foi calculado para cada baia. O cálculo foi feito com base na formula:

$$\text{GMD} = \frac{(\text{peso final da baia} - \text{peso inicial da baia})}{\text{Número de dias da dieta}}$$

Para eficiência alimentar foi utilizado a seguinte fórmula

$$\text{EF} = \frac{\text{GMD}}{\text{CMS}}$$

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a coleta de todos os dados, a tabela 2 apresenta os resultados de ambos os tratamentos onde +I representa os resultados da silagem tratada com o inoculante e -I a silagem controle.

**Tabela 2** Dados de ganho médio diário, consumo de matéria seca e eficiência obtidos após o termino do experimento.

Tratamento	GMD(Kg/d)	CMS (Kg)	EF
-I	1,51	8,54	0,08
+I	1,53	8,75	0,08

De acordo com os dados obtidos, foi possível observar que os animais que foram tratados com e sem inoculante não apresentaram nenhuma diferença em eficiência.

A tabela 3 demonstrou o resultado obtido com teste de Tukey para os diferentes parâmetros analisados. Assim pudemos concluir a nível de 5% de significância que as médias de ambos os tratamentos foram iguais.

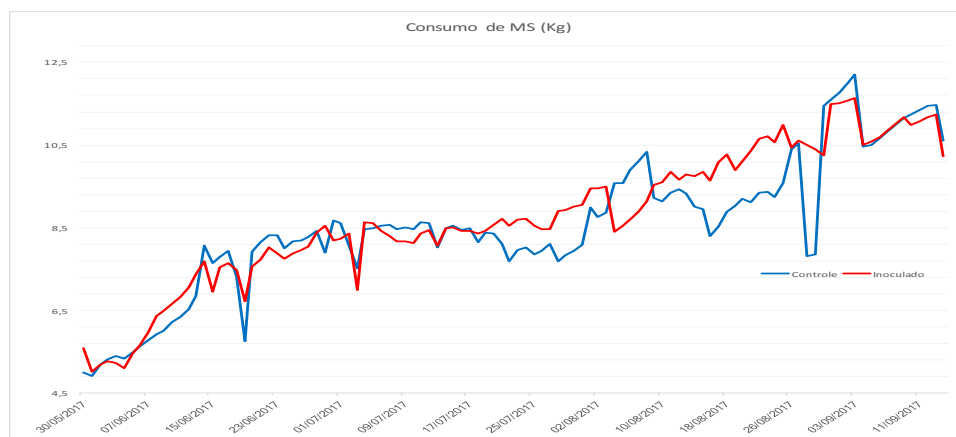
**Tabela 3** Resultado do agrupamento de Tukey para as médias obtidas do experimento.

Tratamento	Resultado	Média	Tukey Grouping
-I	GMD	1,51 Kg/d	A
+I	GMD	1,53Kg/d	A
-I	CMS (Kg)	8,54Kg	A
+I	CMS(Kg)	8,75Kg	A
-I	EF	0,08	A
+I	EF	0,08	A

O gráfico 2 apresenta os dados do consumo médio de matéria seca. É possível observar que até praticamente a metade do experimento, os animais tratados com a silagem contendo M.E apresentaram maior consumo. Porém no final houve muito consumo para a silagem controle. No gráfico abaixo, também é possível observar dois momentos em que ocorreram redução drástica no consumo. A primeira queda observada se deu por conta por uma forte chuva que ocorreu na região o que praticamente impossibilitou a alimentação de ambos os tratamentos. A segunda queda ocorreu por causa do feriado de 04/07 e nos Estados Unidos é habitual durante praticamente todo o dia o disparo de fogos de artifício. Em uma das baias no tratamento sem inoculante ocorreu o rompimento do cano causando a redução no consumo desses animais.

O aumento do consumo, inicialmente pode ser considerado normal visto que os animais demoram um pouco mais para adaptar ao novo ambiente resultando em rúmen praticamente vazio.

**Gráfico 1** média do consumo de matéria seca ao longo de todo experimento.



**Fonte:** Elaboração autoral com base em dados coletados no confinamento experimental, 2019

Após o termino do experimento, as amostras coletadas foram analisadas pelo aluno de doutorado Christian Muller e colocadas à disposição do experimento pelo Dr. James Drouillard. Foi possível observar que não houve nenhuma diferença significativa entre os ingredientes utilizados no experimento.

**Tabela 4** Análise dos ingredientes utilizados durante o experimento

Item	Controle	Inoculado
Ingrediente (% MS)		
Feno de Alfafa	38,36	38,36
Suplemento*	4,43	4,43
Proteína crua %	12,50	12,50
Energia líquida de manutenção (Mcal/cwt)	0,66	0,66
FDN %	39,11	39,11
pH	3,8	3,8
Cálcio %	0,65	0,65
Fósforo %	0,27	0,27
Potássio %	0,10	0,10

\*Suplemento contendo farelo de soja, calcário, sal, mineral, vitamina e pré-misturas aditivas, fornecido (com base na MS total de dieta) 0,25% sal, 0,15 ppm de Cobalto, 10 ppm de Cobre, 0,50 ppm de Iodo, 20 ppm de Manganês, 0,10 ppm de Selênio 30 ppm de Zinco, 1000 IU / lb de Vitamina A, 10 IU / lb de Vitamina E, 30 gramas / ton de Rumensin (Elanco Animal Health).

**Fonte:** (Drouillard & Miller, 2018).

Baseado nos resultados obtidos do experimento, não houve nenhuma diferença em ganho de peso para os animais, ou seja, em valores nutricionais, utilizar *Megasphaera elsdenii* como inoculante não apresentou nenhum resultado estatisticamente comprovável. Será necessária uma avaliação mais minuciosa em relação ao comportamento da bactéria dentro do silo pois a colônia estava morta após abertura devido ao pH de 3,8.

Por outro lado, em outro experimento de Miller, 2018 et, al os mesmos animais que foram submetidos ao experimento de crescimento, apresentaram resultado satisfatório em dietas de terminação.

Nessa “continuação” do teste, os animais foram reimplantados com Tylan Componente TE-200 (Elanco Animal Health) e tratados com uma dieta de terminação à base de milho floculado e Sweetbran® (glúten de milho úmido) por 115 dias, uma vez ao dia, e abatidos em uma planta comercial em Holcomb, Kansas.

Durante o abate foram colhidos dados de peso de carcaça quente e abscesso de fígado. Após 36h de maturação em câmara fria, foram colhidos área de olho-de-lombo (Rib Eye), espessura de gordura subcutanea e escore de marmoreio segundo a classificação do USDA.

As tabelas 5 e 6 demostram os resultados obtidos após o processamento dos dados. Ambos os tratamentos apresentaram desempenho similar à dieta de crescimento, não apresentando resultados estatisticamente diferentes.

Quando avaliado o valor da carcaça em dólar americano, segundo os padrões do frigorífico comercial, os animais que receberam no início a silagem com a ***Megasphaera elsdenii*** apresentaram valor em média de USD\$ 1.628,68 e os animais que não receberam em nenhum momento a bactéria apresentaram valor médio de USD\$ 1.597,98. Quando comparados estatisticamente, apresentaram p.valor de 0,07 o que pode indicar maior valor.



Tabela 5 Resultados de ganho de peso na dieta de terminação.

Item	Controle	<i>Megasphaera</i>	<i>P</i> -value
Peso Inicial (Kg)	458,13	455,86	0,83
Peso final de carcaça (Kg)	617,34	624,60	0,35
GMD ajustado com dados de peso de carcaça (Kg) *	1,38	1,47	0,16
Consumo de matéria seca (Kg)	10,76	10,88	0,48
EF	3,64	3,40	0,16

\*Rendimento médio utilizado para o calculo de 63%.

**Fonte:** (Drouillard & Miller, 2018)

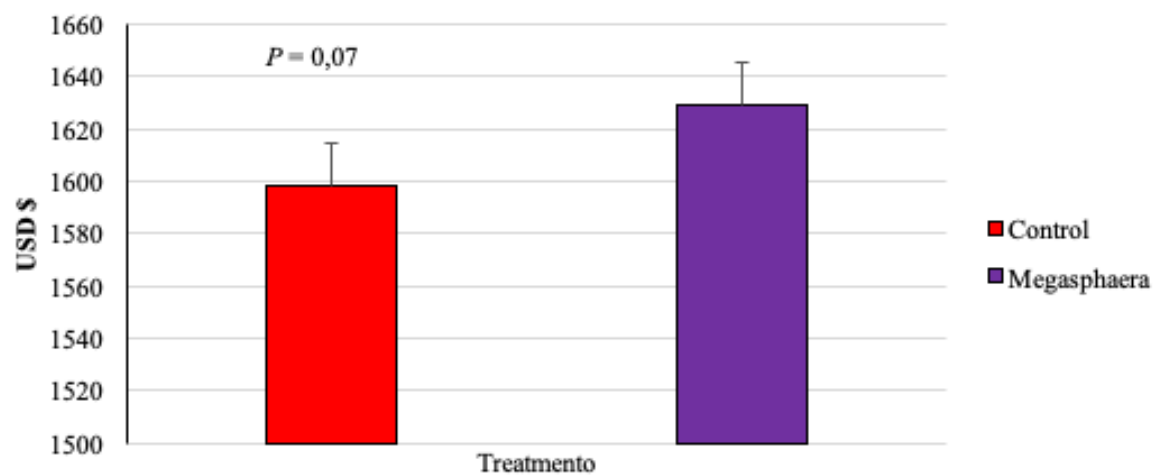
Tabela 6 Resultado das carcaças

Item	Controle	<i>Megasphaera</i>	<i>P</i> -value
Peso carcaça quente (Kg)	388,73	393,72	0,23
Espessura de gordura subcutanea (cm)	1,35	1,35	0,94
Área de Ribeye cm <sup>2</sup>	92,13	92,64	0,69
Score de Marmoreio*	407	409	0,78
Classificação USDA%			
Choice	50,6	57,3	0,21
Select	48,2	42,1	0,26
Sub-select	1,2	0,6	0,15
Abcesso de fígado%	12,7	16,7	0,44

\* Pontuação de marmorização determinada pelo sistema de imagens por computador (VBG 2000, E + V Technology GmbH & Co. Kg)

**Fonte:** (Drouillard & Miller, 2018).

**Gráfico 2** Valor das carcaças



**Fonte:** (Drouillard & Miller, 2018).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É evidente que a ***Megasphaera elsdenii***, quando aplicada via oral visando combater acidose por conta do consumo do ácido láctico no rúmen possui inúmeros efeitos positivos para o desempenho dos animais.

Após uma análise visual, uma hipótese levantada é que a ***Megasphaera elsdenii*** pode ter ocasionado uma maior estabilidade no silo devido a produção de ácidos orgânicos o que impediu a proliferação de bactérias e fungos indesejáveis

Importantíssimo ressaltar que ainda é necessário esgotar o tema através da continuidade dos estudos para uma melhor e conclusiva verificação do comportamento da bactéria dentro do silo e quais serão os benéficos que resultarão em maior rendimento animal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARYAL. Differences between Gram Positive and Gram Negative Bacteria, **Micro biology Page**. Disponível em: <https://microbiologyinfo.com/differences-between-gram-positive-and-gram-negative-bacteria/> Acesso em: 02 jun.2019.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A. ; SIQUEIRA, G.R. Aspectos Associados ao Manejo na Ensilagem. **Forragicultura Ciência, Tecnologia e Gestão dos Recursos Forrageiros**, v.1, P.649-481, 2013.

BERNARDES, T. F. 2016. Advances in Silage Sealing. Páginas 53–62 in **Advances in Silage Production and Utilization**. Vol. 1. T. Da Silva and E. M. Santos, ed. InTech, Rijeka, Croatia.

BERNARDES, T. F. **Curso de silagem ministrado à empresa Maiz Ltda.** em 03 jun.2019. 8 slides.

COUNOTTE, G.H.M., Prins, R.A., Janssen, R.H.A.M., deBie, M.J.A., 1981. Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of D-(2-13C)lactate in the rumen of dairy cattle. **Appl. Environ. Microbiol.** 42, 649–655.

DAWSON, K.A., Allison, M.J., 1988. Digestive disorders and nutritional toxicity. In: Hobson, P.N. (Ed.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. **Elsevier Applied Science**, London, pp. 445–459

DROUILLARD, J. S. et al. *Megasphaera elsdenii* on the performance of steers adapting to a high-concentrate diet, using three or five transition diets. **South African Journal of Animal Science**, v. 42, n. 2, p. 195-199, 2012.

ESTRELA & PÉCORA. Características da Citologia Bacteriana, **USP Page**. Disponível em: <http://www.forp.usp.br/restauradora/calcio/citolog.htm> Acesso em: 01 jun. 2019

FILHO, José Luiz Viana Coutinho; PERES, Roberto Molinari; JUSTO, Célio Luiz. Produção de carne de bovinos contemporâneos, machos e fêmeas, terminados em confinamento. **R. Bras. Zootec**, v. 35, n. 5, p. 2043-2049, 2006.

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

HENNING, P. H. et al. The potential of *Megasphaera elsdenii* isolates to control ruminal acidosis. **Animal feed science and technology**, v. 157, n. 1-2, p. 13-19, 2010.

HENNING, P. H. et al. The effect of dosing *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 (Me) on lactation performance of multiparous Holstein cows. **South African Journal of Animal Science**, v. 41, n. 2, p. 156-160, 2011.

HUNTER, R.B. Selection and evaluation procedures for whole-plant corn silage. **Canadian Journal Plant Science**, v.58, p.661-678, 1978.

KARTCHNER, Rex J.; THEURER, Brent. Comparison of hydrolysis methods used in feed, digesta, and fecal starch analysis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 29, n. 1, p. 8-11, 1981.

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

MAROUNEK, MILAN; FLIEGROVA, KATERINA; BARTOS, STANISLAV. Metabolism and some characteristics of ruminal strains of *Megasphaera elsdenii*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 55, n. 6, p. 1570-1573, 1989.

MILLER, Kevin Alan. **Utilizing Lactipro (*Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125) to accelerate adaptation of cattle to high-concentrate diets and improve the health of high-risk calves**. 2013. Tese de Doutorado. Kansas State University

MUCK, R.E.; HOLMES, B.J. Bag silo densities and losses. **Transaction of ASABE**, St Joseph, v.49, p.1277-1284, 2001.

Müller H. C. 2018. Inoculation of Corn Silage with *Megasphaera elsdenii* and its Impact on Performance of Backgrounding Cattle and Subsequent Finishing Performance and Carcass Traits 2018. **Tese de Doutorado**. Kansas State University.

NUSSIO, L.G. et al. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. In: **Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas**, 2001, Maringá. Anais do Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Maringá: UEM/CCA/DZO, 2001. 319p. p. 127- 145.

PAZIANI, Solidete de Fátima et al. Características agronômicas e bromatológicas de híbridos de milho para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 3, p. 411-417, 2009.

PIMENTEL, J.J.O. et al. Efeito da suplementação protéica no valor nutritivo de silagens de milho e sorgo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 1042-1049, 1998.

RONALD, G.K. Extension Publications: **Forage and Grain Crop.** Dubuque.Iowa: Kendall/Hunt.152,p,1994

SAVOIE, P.;JOFRIET, J.C. Silage storage. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E AND HARRISON, J.H (Ed.). **Silage science and technology.** Medson: American Society of Agronomy, 2003. P.405-467. (Agronomy monograph, 42).

SILVA, Almir V. et al. Composição bromatológica e digestibilidade in vitro da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 1881-1890, 2005.

VOGEL, Kenneth P. et al. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. **Crop Science**, v. 39, n. 1, p. 276-279, 1999.

WEDEKIN, V.S.P.; BUENO, C.R.F.; AMARAL, A.M.P. Análise econômica do confinamento de bovinos. *Informações econômicas*, v.24, n.9, p.123-131, 1994.

ZEOULA, L.M. et al. Avaliação de Cinco Híbridos de Milho (*Zea mays*, L.) em Diferentes Estádios de Maturação; Composição Químico-Bromatológica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.556-566, out, 2003.

SAVOIE, P.;JOFRIET, J.C. Silage storage. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E AND HARRISON, J.H (Ed.). **Silage science and technology.** Medson: American Society of Agronomy, 2003. P.405-467. (Agronomy monograph, 42).

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A. ; SIQUEIRA, G.R. Forragicultura Ciência, Tecnologia e Gestão dos Recursos Forrageiros, v.1, P.649-481, 2013.