UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
***CAMPUS* PROFESSORA CINOBELINA ELVAS**
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA TROPICAL

ANA BEATRIZ DE ALMEIDA DUARTE

ENZIMA FIBROLÍTICA EM PRÉ-SECADO DE GRAMÍNEAS TROPICAIS

Bom Jesus-PI

2024

ANA BEATRIZ DE ALMEIDA DUARTE

ENZIMA FIBROLÍTICA EM PRÉ-SECADO DE GRAMÍNEAS TROPICAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical (PPGZT) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), *Campus* Professora Cinobelina Elvas (CPCE), na área de concentração Produção Animal nos Trópicos e linha de pesquisa Produção de Alimentos e Nutrição Animais nos Trópicos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Tairon Pannunzio Dias e Silva

Bom Jesus- PI

2024

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Divisão de Representação da Informação

D8126e Duarte, Ana Beatriz de Almeida.
Enzima fibrolítica em pré-secado de gramíneas tropicais / Ana Beatriz de Almeida Duarte. -- Bom Jesus - PI, 2024.
85 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical, 2024.
"Orientador: Prof. Dr. Tairon Pannunzio Dias e Silva"

1.Enzimas. 2. Enzima fibrolítica. 3. Composição química. 4. Degradabilidade. 5. Gramíneas tropicais. 6.Gases de efeito estufa. I. Silva, Tairon Pannunzio Dias e. II. Título.

CDD 636.085

Bibliotecária: Gisela Beatriz Costa Oliveira Carvalhêdo Lima - CRB3/748

ANA BEATRIZ DE ALMEIDA DUARTE

ENZIMA FIBROLÍTICA EM PRÉ-SECADO DE GRAMÍNEAS TROPICAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical, da Universidade Federal do Piauí, como requisito à obtenção do título de Mestre em Zootecnia Tropical.

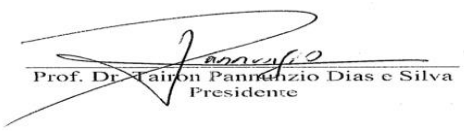
Área de concentração: Produção Animal nos Trópicos

Linha de pesquisa: Produção de Alimentos e Nutrição Animal nos Trópicos

Orientador: Prof. Dr. Tairon Pannunzio Dias e Silva

Aprovado em 25 de março 2024

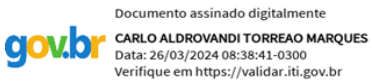
BANCA EXAMINADORA



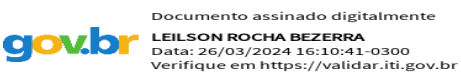
Campus Professora Cinobelina Elvas, Universidade Federal do Piauí



Campus Professora Cinobelina Elvas, Universidade Federal do Piauí



Prof. Dr. Carlo Aldrovandi Torreão Marques
Escola Agrícola de Jundiaí, Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Examinador Externo



Prof. Dr. Leílson Rocha Bezerra
Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

Ao meu Pai, Marcelo da Silva Duarte, por todo amor e apoio durante toda a minha jornada.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus.

À Universidade Federal do Piauí e ao Programa Pós-graduação em Zootecnia Tropical, por me conceder o título de Mestre em Zootecnia.

À Universidade Federal do Piauí *Campus* Professora Cinobelina Elvas, por todo apoio.

Agradecimento especial ao meu orientador Prof. Dr. Tairon Pannunzio Dias e Silva por toda a orientação dada com excelência.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical por todo conhecimento repassado.

Aos técnicos de laboratório e funcionários da UFPI - CPCE.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro a mim concedido.

Aos integrantes do Grupo de Estudo e Pesquisa em Nutrição Animal e Avaliação de Alimentos para Ruminantes (RUMINAL - UFPI - CPCE) que contribuíram de forma significativa para a realização desse trabalho.

À Universidade Estadual do Piauí, onde iniciei meu curso superior de Bacharelado em Agronomia.

E a todos que contribuíram para a concretização deste trabalho

A todos vocês, meus mais sinceros agradecimentos. Muito obrigado!

“Um dia, quando olhares para trás, veras que os dias mais belos foram aqueles em que lutastes”.

Sigmund Freud

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Ana Beatriz de Almeida Duarte – Nascida em Teresina-PI em 17 de fevereiro de 1998, filha de Marcelo da silva Duarte e Cristiane Bezerra de Almeida Duarte. Em 2015 concluiu o ensino médio no Instituto magister de ensino na cidade de Teresina-PI. Em março de 2016 ingressou no ensino superior no curso de agronomia na universidade estadual do Piauí – UESPI, *Campus* poeta Torquato Neto na cidade de Teresina – PI, concluindo em 2022 com Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: Avaliação da composição bromatológica da silagem de capim-Andrapogon com diferentes aditivos sob orientação do professor Doutor Francisco Araújo Machado.

ENZIMA FIBROLÍTICA EM PRÉ-SECADO DE GRAMÍNEAS TROPICAIS

RESUMO GERAL

Objetivando avaliar a estabilidade aeróbica, qualidade, degradabilidade *in vitro*, fermentação ruminal e produção de gases de gramíneas tropicais conservadas em forma de pré-seco sem e com a adição de xilanase, foram realizados três estudos. No primeiro capítulo, foi realizada uma revisão integrativa buscando identificar as principais gramíneas tropicais utilizadas na produção de pré-secado. Adotando a estratégia mnemônica PVO, em que consiste em população (P): gramíneas forrageiras tropicais; variáveis (V): produção de pré-secado, resultados (O): parâmetros qualitativos, foram selecionados artigos em três bases de dados diferentes, SCOPUS (Elsevier), Web of Science e Science Direct. Concluímos que as principais gramíneas forrageiras utilizadas na produção de pré-secado pertencem aos gêneros *Cynodon* spp. e *Panicum* spp., destacando-se o capim-tifton 85 e o capim-tanzânia, respectivamente. No segundo capítulo, foi avaliado o efeito da adição de xilanase sobre a estabilidade aeróbica, composição química, parâmetros fermentativos e microbiológicos de gramíneas tropicais conservadas em forma de pré-secado. Para tanto, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 × 2, quatro cultivares de gramíneas pré-secadas (*Andropogon gayanus* cv. Planaltina, *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) com e sem adição da enzima xilanase. Não houve a quebra da estabilidade em nenhuma das gramíneas. Não houve diferença significativa nos valores de pH durante a abertura do pré-secado. Houve diferença significativa entre as cultivares para os teores de ácido lático e propiônico, com maior fermentação no capim-mombaça. Em relação ao ácido butírico, o capim-massai apresentou o valor mais elevado. Houve efeito para matéria seca entre cultivares destacando-se o capim Massai. O capim-andrapogon, com e sem xilanase, demonstrou maior teor de proteína bruta PB. O capim-marandu exibiu o menor teor de fibra em detergente neutro FDN, enquanto Mombaça e Marandu apresentaram as menores quantidades de fibra em detergente ácido FDA. Os maiores teores de levedura foram observados nos pré-secados sem adição de xilanase. Portanto, concluí-se que a dose aplicada da enzima xilanase não resultou em mudanças significativas na estabilidade aeróbica, qualidade, parâmetros fermentativos e microbiológicos das gramíneas pré-secadas. No terceiro capítulo, objetivou-se avaliar o efeito da adição de enzima fibrolítica em gramíneas tropicais pré-secadas na ração total misturada (RTM) sobre a degradabilidade *in vitro*, a cinética da degradação ruminal e a produção de CH_4, utilizando o mesmo delineamento do experimento anterior. Ao final, foi verificado que o uso da enzima xilanase no pré-secado não afetou ($P > 0,05$) os parâmetros da degradação das dietas. A dose utilizada da enzima xilanase não alterou a degradabilidade da RTM. Contudo, tendeu a mitigar a produção de CH_4 por kg de matéria orgânica degradada. Diante do exposto, faz-se necessário desenvolver outros estudos avaliando a adição de diferentes doses de xilanase para indicar a melhor dose-resposta em pré-secado de gramíneas tropicais.

Palavras-chave: Composição química. Degradabilidade. Estabilidade aeróbica. Fracionamento de carboidratos. Gramineas tropicais. Gases de efeito estufa. Parâmetros fermentativos. Produção de metano.

FIBROLYTIC ENZYME IN HAYLAGE OF TROPICAL GRASSES

GENERAL ABSTRACT

Aiming to evaluate the aerobic stability, quality, *in vitro* degradability, ruminal fermentation and gas production of tropical grasses preserved in haylage form without and with the addition of xylanase, three studies were carried out. In the first chapter, we carried out an integrative review seeking to identify the main tropical grasses used in pre-dried production. Adopting the PVO mnemonic strategy, which consists of population (P): tropical forage grasses; variables (V): pre-dried production, results (O): qualitative parameters, articles were selected from three different databases, SCOPUS (Elsevier), Web of Science and Science Direct. We conclude that the main forage grasses used in haylage production belong to the genera *Cynodon* spp. and *Panicum* spp., highlighting Tifton 85 grass and Tanzania grass, respectively. In the second chapter, we aimed to evaluate the effect of adding xylanase on the aerobic stability, chemical composition, fermentative and microbiological parameters of tropical grasses preserved as haylage. To this end, a completely randomized experimental design was used, in a 4 × 2 factorial scheme, four cultivars of haylage grasses (*Andropogon gayanus* cv. Planaltina, *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai and *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) with and without addition of the xylanase enzyme. There was no break in stability in any of the grasses. There was no significant difference in pH values during pre-drying opening. There was a significant difference between the cultivars for lactic and propionic acid levels, with greater fermentation in mombaça grass. In relation to butyric acid, Massai grass presented the highest value. There was an effect for dry matter between cultivars, especially Massai grass. Andrapogon grass, with and without xylanase, demonstrated a higher CP crude protein content. Marandu grass exhibited the lowest NDF neutral detergent fiber content, while Mombaça and Marandu presented the lowest amounts of FDA acid detergent fiber. The highest yeast contents were observed in those pre-dried without the addition of xylanase. Therefore, it was concluded that the applied dose of the xylanase enzyme did not result in significant changes in the aerobic stability, quality, fermentative and microbiological parameters of the haylage grasses. In the third chapter, we aimed to evaluate the effect of adding fibrolytic enzyme to tropical grasses haylage in the total mixed ration (TMR) on *in vitro* degradability, ruminal degradation kinetics and CH4 production, using the same design as the previous experiment. In the end, we verified that the use of the xylanase enzyme in pre-drying did not affect ($P > 0.05$) the parameters of diet degradation. The dose of xylanase enzyme used did not alter the degradability of TMR. However, it tended to mitigate CH_4 production per kg of degraded organic matter. Given the above, it is necessary to develop further studies evaluating the addition of different doses of xylanase to indicate the best dose-response in tropical grasses preserved in haylage form.

Keywords: Aerobic stability. Carbohydrate fractionation. Chemical composition. Fermentative parameters. Greenhouse gases. *in vitro* degradability. Methane production. Tropical grasses.

LISTA DE TABELAS

Capitulo I

Tabela 1- Termos utilizados em busca unicruzada e de alta sensibilidade para estudo das principais gramíneas forrageiras tropicais utilizadas na produção dos pré-secados 23
Tabela 2- Principais gramíneas forrageiras tropicais utilizadas na produção de pré-secado .. 25
Tabela 3. Características químicas (g/Kg de MS) das gramíneas pré-secadas utilizadas na produção de pré-secado 28
Tabela 4. Parâmetros fermentativos das principais gramíneas utilizadas para pré-secado, ácidos orgânicos (g/Kg de MS), pH, estabilidade aeróbica 29

Capitulo II

Tabela 1. Composição química das diferentes gramíneas tropicais *in natura*. 43
Tabela 2. Composição química (g/kg de matéria seca) do pré-secado de gramíneas tropicais com e sem xilanase. 44
Tabela 3. Parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* do pré-secado de forrageiras tropicais com e sem xilanase 44
Tabela 4 - Temperatura interna e superficial, pH e perdas na abertura do pré-secado de diferentes gramíneas tropicais com e sem xilanase 45
Tabela 5. Quantificação microbiológica (log UFC g^{-1}) do pré-secado de gramíneas tropicais com e sem xilanase. 47

Capítulo III

Tabela 1. Composição química (g/kg de matéria seca) dos ingredientes *in natura* que compuseram a raçao total misturada (RTM) 67
Tabela 2. Composição química (g/kg de matéria seca) da ração total misturada (RTM) á base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica 71

Tabela 3. Degradabilidade *in vitro*, produção total de gás e produção de metano em ração total misturada (RTM) á base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica 73
Tabela 4. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (mol/100 mol) da ração total misturada (RTM) á base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzimas fibrolíticas 74
Tabela 5. Cinética da degradação ruminal da ração total misturada (RTM) á base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica..... 75

LISTA DE FIGURAS

Capitulo I

Figura 1- fluxograma do método de seleção da amostragem final da revisão integrativa da revisão integrativa 25

Capitulo II

Figura 1- Estabilidade aeróbica do pré-secado de diferentes gramíneas tropicais com (A) e sem (B) xilanase. 45

Capítulo III

Figura 1. Cinética da produção de gases da ração total misturada (RTM) á base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica 65

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Percentual

µm - Micras

cm - Centímetro

CO_2 - Símbolo da molécula de gás carbônico

g - Grama

g kg^{-1} - Grama por quilograma

h – Hora

H_2SO_4 - Símbolo da molécula de ácido sulfúrico

kg - Quilograma

m - Metro

N - Nitrogênio

$N\text{-}NH_3$ - Nitrogênio amoniacal

º - Grau

ºC - Grau Celsius

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAL - Bactérias do ácido láctico

BDA - Batata dextrose ágar

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CCA - Centro de Ciências Agrarias

CPCE - *Campus* Professora Cinobelina Elvas

CHSL - Carboidratos solúveis

CHOT - Carboidratos totais

DIC - Delineamento inteiramente casualizado

Dr. - Doutor

EE - Extrato etéreo

FDA - Fibra em detergente ácido

FDN - Fibra em detergente neutro

RUMINAL - Grupo de Estudo e Pesquisa em Nutrição e Avaliação de alimentos para Ruminantes

ML - Mofo e levedura

MM - Matéria mineral

MN - Matéria natural

MO - Matéria orgânica

MS - Matéria seca

PB - Proteína bruta

PPGZT - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical

pH - Potencial hidrogeniônico

PI - Piauí

Prof. - Professor

P-valor - Valor de significância

SAS - Statistical analysis system

GLM - Modo linear geral

UFC - Unidade formadora de colônia

UFPI – Universidade Federal do Piauí

SUMÁRIO

Considerações iniciais 17
Capítulo I. Revisão bibliográfica: gramíneas tropicais utilizadas na produção de pré-secado: uma revisão integrativa 19
1. INTRODUÇÃO 22
2. MÉTODOS 22
2.1. Elaboração do protocolo e questão norteadora 22
2.2. Busca no banco de dados 22
2.3. Seleção e coleta de dados 23
2.4. Avaliação dos estudos inseridos 24
3. RESULTADOS 24
4. DISCUSSÃO 30
5. Limitações e propostas para futuras pesquisas 31
6. CONCLUSÕES 32
REFERÊNCIAS 33
Capítulo II. Pré-secado de gramíneas tropicais com adição de enzima fibrolítica 34
1. INTRODUÇÃO 37
2. MATERIAL E MÉTODOS 38
2.1. Local do experimento 38
2.2. Gramíneas e produção do pré-secado 38
2.3. Determinação de Ph, nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e ácidos orgânicos 40
2.4. Composição química 40
2.5. Microbiologia e estabilidade aeróbica 41
2.6. Analise estatística dos dados 41
3. RESULTADOS 42
4. DISCUSSÃO 47
5. CONCLUSÕES 50
REFERÊNCIAS 51
Capítulo III. Enzima fibrolítica em dietas a base de pré-secado de gramíneas tropicais: qualidade, degradabilidade *in vitro* e produção de gases 56
1. INTRODUÇÃO 59
2. MATERIAL E MÉTODOS 60

2.1. Local do experimento, gramíneas, pre-secagem e dietas experimentais (substratos) 60
2.2. Análises químicas 62
2.3. Produção de gás *in vitro* 62
2.4. Parâmetros de degradabilidade da matéria orgânica e fermentação ruminal 63
2.5. Análise estatística dos dados 64
3. RESULTADOS 64
4. DISCUSSÃO 70
5. CONCLUSÕES 73
REFERÊNCIAS 74

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A busca por alimentos que maximize o desempenho dos ruminantes tem se tornado cada vez mais constante. Contudo a variação no regime de chuvas que ocorre em grande parte do território (Schmidt et al., 2018), impacta na produção de forragem que é a base principal de alimentação desses animais, causando um aumento nos custos de produção com a compra de suplementos afim de suprir a demanda alimentar de seus animais. Nesse sentido, é necessário que aja um planejamento alimentar usando métodos de conservação a fim de preservar a forragem excedente da época chuvosa e diminuir os custos aos produtores.

O pré-secado é uma forma de conservação, onde a forragem passa por uma secagem até atingir de 400 a 600 g kg^{-1} (Edvan et al., 2023), sendo compactadas e acondicionadas em forma de fardos revestidas por um filme plástico para que ocorra a fermentação anaeróbia.

Com o objetivo de facilitar a disponibilidade dos nutrientes contidos nas gramíneas tropicais, pesquisas com o uso de enzimas fibrolíticas têm sido realizadas. Entretanto, poucos estudos sobre a capacidade dessas enzimas, quando adicionadas a forragem conservada, foram encontrados. Dessa forma, se faz necessário a condução de estudos utilizando enzimas fibrolíticas no pré-secado de gramíneas tropicas.

As enzimas fibrolíticas exógenas que são extraídas de fungos ou bactérias atuam em conjunto com as enzimas produzidas pelos microrganismos ruminais (Martins et al., 2007). Essas enzimas quando adicionadas na dieta dos ruminantes atua na melhoria da digestão fibrosa da forragem, além de aumentar a eficiência do processo fermentativo, corroborando com a atuação de microrganismos desejáveis, como as bactérias produtoras de ácido lático (Muck e Kung Jr., 1997; Kung Jr., 2000). Assim, se faz necessário testar a enzima fibrolítica em gramíneas tropicais pré-secadas através da avaliação das características da forragem após a conservação.

Assim, foi hipotetizado que a adição da enzima xilanase no pré-secado de gramíneas tropicais melhorasse a composição química, a de gradabilidade *in vitro*, fermentação ruminal e a produção de gases da ração total misturada.

Esta dissertação apresenta-se dividida em três capítulos. Capitulo I: Gramíneas tropicais utilizadas na produção de pré-secado: uma revisão integrativa. Capitulo II: Pré-secado de gramíneas tropicais com adição de enzima fibrolítica. Capitulo III: Enzima fibrolítica em dietas a base de pré-secado de gramíneas tropicais: qualidade, degradabilidade *in vitro* e produção de gases.

CAPÍTULO I

Gramíneas tropicais utilizadas na produção de pré-secado: uma revisão integrativa

GRAMÍNEAS TROPICAIS UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE PRÉ-SECADO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

RESUMO

Com o objetivo de identificar as principais gramíneas tropicais utilizadas na produção de pré-secado, desenvolvemos uma revisão integrativa. Através da estratégia mnemônica PVO, em que consiste em população (P): gramíneas forrageiras tropicais; variáveis (V): produção de pré-secado, resultados (O): parâmetros qualitativos, levantamos a seguinte questão: "Quais são as principais gramíneas forrageiras tropicais utilizadas na produção dos pré-secados?". Foram selecionados artigos em três bases de dados diferentes, SCOPUS (Elsevier), Web of Science e Science Direct. A busca identificou 1.049 artigos, mas apenas 10 foram considerados aptos e incluídos para extração de dados. Entre as gramíneas utilizadas 50% eram do gênero *Cynodon* spp., 30% cultivares de *Panicum maximum*, 10% cultivares de *Festuca rubr*, e 10% gênero *Dactylis glomerata*, 10% cultivar *Trisetum flavescens*. Concluímos que as principais gramíneas forrageiras utilizadas na produção de pré-secado pertencem aos gêneros *Cynodon* spp. e *Panicum* spp., destacando-se o capim-tifton 85 e o capim-tanzânia, respectivamente.

Palavras-chave: Características nutricionais. Conservação. Forragem. Gramíneas tropicais. Haylage.

TROPICAL GRASSS USED IN PRE-DRIED PRODUCTION: AN INTEGRATIVE REVIEW

ABSTRACT

With the aim of identifying the main tropical grasses used in haylage production, we developed an integrative review. Through the PVO mnemonic strategy, which consists of population (P): tropical forage grasses; variables (V): pre-dried production, results (O): qualitative parameters, raising the following question: "What are the main tropical forage grasses used in haylage production?". Articles were selected from three different databases, SCOPUS (Elsevier), Web of Science and Science Direct. The search identified 1,049 articles, but only 10 were considered suitable and included for data extraction. Among the grasses used, 50% were of the genus *Cynodon* spp., 30% cultivars of *Panicum maximum*, 10% cultivars of Festuca rubr, and 10% genus *Dactylis glomerata*, 10% cultivar *Trisetum flavescens*. We conclude that the main forage grasses used in pre-dried production belong to the genera *Cynodon* spp. and *Panicum* spp., highlighting tifton 85 grass and tanzania grass, respectively.

Keywords: Conservation. Forage. Haylage. Nutritional characteristics. Tropical grasses.

1. INTRODUÇÃO

A alimentação é um dos pontos mais importantes dentro do sistema de produção animal, sendo imprencidivel a busca por alternativas de baixo custo e aplicáveis ao campo, que maximize o desempenho dos animais. Com a ocorrência de estacionalidade ao longo do ano, o fornecimento de forragem aos ruminantes é limitado. Esse cenário acarreta na queda da produtividade animal e uma das alternativas encontradas para contornar as perdas produtivas durante esse período seco, é a conservação de forragens (Fluck et al., 2018).

O pré-secado é uma forma de conservar a forragem com um bom valor nutritivo, consistindo na remoção parcial da água da planta através da técnica do emurchecimento, com teores entre 400 a 600 g/kg de MS (Edvan et al., 2023). A técnica objetiva controlar o processo de fermentação durante a conservação e reduzir fermentações secundarias indesejáveis (Horst et al., 2016).

A escolha da espécie forrageira para a confecção do pré-secado é dependente das condições climáticas da região, fertilidade do solo, tecnologia aplicada, exigências nutricionais dos animais e, economicidade do processo. As gramíneas ou leguminosas pré-secadas de clima temperado, apresentam em sua composição, menores teores e melhor qualidade da fração fibrosa, quando comparadas à pré-secados de forrageiras tropicais (Jimenez filho et al., 2013).

O microbioma que está presente nas forragens pré-secadas é favorável para o crescimento das bactérias que produzem produtos desejáveis na fermentação anaeróbica, contribuindo para um pH equilibrado, mantendo a qualidade nutricional e estabilidade do produto (Costa et al., 2019). Em países da Europa, o pre-secado é amplamente utilizado na alimentação de equinos (Muller, 2011). No Brasil, a utilização do pré-secado está mais evidente na alimentação de ruminantes, pois é possível armazenar o excedente da forragem e posteriormente utilizá-la na alimentação desses animais durante os períodos de escassez (Pereira, 2007).

Pesquisas que compararam duas técnicas de conservação de forragens, a fenação e a pré-secagem, revelaram resultados positivos quanto a eficácia da pré-secagem como forma de conservar a qualidade da forragem até mesmo em ambientes mais frios (Borreani et al., 2007). Contudo, para trazer uma visão mais ampla sobre os resultados disponíveis através de estudos primários extraídos em base de dados e, trazer informações e sugestões para pesquisas futuras, objetivou-se, por meio de uma revisão integrativa, identificar as principais gramíneas forrageiras tropicais utilizadas na produção de pré-secado.

2. MÉTODOS

O presente estudo consiste em uma revisão integrativa que tem como objetivo gerar uma visão mais ampla das principais gramíneas utilizadas associadas a técnica de conservação pré-secagem. Atualmente este é o método mais amplo de revisão e pesquisa para definir o conhecimento atual a um tópico específico.

2.1. Elaboração do protocolo e questão norteadora

O protocolo de revisão integrativa foi desenvolvido para que as pesquisas feitas tenham um embasamento científico de alto padrão, extraindo dados corretos usando uma estratégia de busca que atenda o objetivo apresentado. Para garantir que os termos utilizados para a busca foram de forma não aleatória, foi feita uma análise de cada artigo científico publicado sobre o tema em estudo. Para a elaboração da questão norteadora desta revisão, foi adotado a estratégia mnemônica PVO, em que consiste em população (P) gramíneas forrageiras tropicais, variáveis (V) produção de pré-secado, resultados (O) foram parâmetros qualitativos. Levantando a seguinte questão: “Quais são as principais gramíneas forrageiras tropicais utilizadas na produção de pré-secado? ”.

2.2. Busca no banco de dados

Os artigos selecionados foram pesquisados em três bases de dados diferentes, onde apresentavam estudos que respondiam a questão norteadora, sendo eles SCOPUS (Elsevier), Web of Science e Science Direct até 08 de setembro de 2023. Para ter acesso a base de dados foi utilizada o portal de periódicos CAPES, via Universidade Federal do Piauí (UFPI, Brasil). A Tabela 1 mostra os termos utilizados na busca e seus sinônimos.

Os artigos estavam disponíveis em base dados eletrônicos, assim foram selecionados artigos que respondiam à questão norteadora. Os estudos eram considerados importantes quando (1) continham pesquisas primárias publicadas em formato de artigo científico, (2) incluía o uso de gramíneas forrageias na confecção do pré-secado, (3) e as características químicas e fermentativas da gramínea pré-secada. Artigos duplicados na mesma base e nas demais foram considerados uma única vez. Foram descartados artigos em formato de cartas ao editor, resumo, teses e dissertações, livros ou capítulos de livros, palestras, outras resenhas, correspondências. Artigos que continham silagem e outras formas de conservação que não era o pré-secado, assim como forrageiras que não eram gramíneas tropicais foram excluídos.

Tabela 1. Termos utilizados em busca unicruzada e de alta sensibilidade para estudo das principais gramíneas forrageiras tropicais utilizadas na produção dos pré-secados.

	Palavras-chave
População (P)	"**Tropical forage grasses**" OR "Forage crops" OR "Crops forage" OR "Fodder" OR "Grass" OR "Grasses" OR "Forage grasses" OR "Grasses forage" OR "Pasture" OR "Tropical pasture" OR "Pasture tropical" OR "Tropical" OR "Forages" OR "Forage" OR "Lawn" OR "*Brachiaria*" OR "*Urochloa*" OR "*Panicum*" OR "*Megathyrsus*" OR "*Cynodon*" OR "*Pennisetum*" OR "Foragers" OR "Tropical forages" OR "Forages tropical" OR "Grass tropical" OR "Tropical grass" OR "Guinea grass" OR "*Megathyrsus maximus*" OR "*Andrapogon gayanus*"
Variáveis (V)	"**Haylage**" OR "Production haylage" OR "Pre dry forages" OR "confection haylage" OR "fodder pre dry"
Resultados (O)	**Qualitative parameters**" OR "pH" OR "N-NH_3" OR "ammonial nitrogen" OR "aerobic stability" OR "ethanol content and organic acids" OR "microbiological determination" OR "chemical composition" OR "determination of dry matter" OR "crude protein" OR "ether extract" OR "dry matter mineral" OR "detergent fiber neutral" OR "acid detergent Fiber OR "total soluble carbohydrates" OR "*In vitro* ruminal degradability" OR "gas production" OR "fermentation parameters"

2.3. Seleção e coleta de dados

Na primeira coleta de dados os artigos foram avaliados pela leitura individual do título e resumo, em seguida os critérios de exclusão foram empregados juntamente com o objetivo da pesquisa. Na segunda etapa os artigos escolhidos foram lidos na integra passando por uma nova triagem e selecionando os que correspondiam com a pesquisa. Um formulário foi elaborado

para extração dos dados para fins de estudo incluindo informações sobre a publicação (título do artigo, bases de dados indexadas, autores, país, idioma e ano de publicação), nome da revista científica, aspectos metodológicos do estudo (descrição do experimento incluindo os tratamentos e período experimental, variáveis analisadas, e resultados) as gramíneas mais utilizadas em pré-secado, limitações dos estudos e conclusões.

2.4. Avaliação dos estudos inseridos

Os estudos foram classificados de acordo com o seu nível de evidência, elaborado (nível de evidência JBI) e as que apresentaram um suporte nível 2 foram acrescentadas apenas para garantir estudos de maior evidência. Para estimar a qualidade metodológica empregada nos estudos, foi utilizado o instrumento CASP para o tipo de estrutura metodológica (disponível em: https://casp-uk.net/casp-tools-checklists/) isso inclui apenas os que atendiam ao critério segundo o método da pesquisa apresentado em cada estudo.

3. RESULTADOS

Foram identificados 1.049 estudos, dos quais 1000 eram artigos científicos. Desse total, 50 artigos foram identificados como dados de possível interesse. Após a leitura completa, buscando artigos que respondiam à questão norteadora, dez publicações foram consideradas aptas e incluídas devido a solidez da metodologia para extração dos dados (Figura 1). Todos os resultados apresentaram nível 1 de evidencia. Os artigos selecionados envolvem publicações datadas de 2006 a 2023, sendo que 40% foram publicados nos últimos 5 anos. Os estudos utilizados foram realizados no Brasil (8), Itália (1), e Estados Unidos da América (1), publicados em inglês e português. Dentre os estudos selecionados, houve uma variação na duração dos experimentos, variando de 3 meses a 1 ano.

Dentre as gramíneas forrageiras mais utilizadas na produção de pré-secado podemos destacar os gêneros *Cynodon* spp. (60%) e *Panicum* spp. (30%) (Tabela 2). Os parâmetros de composição química do pré-secado analisados com maior frequência nos estudos foram a matéria seca (MS, 100%), proteína bruta (PB, 100%), fibra em detergente neutro (FDN, 100%), fibra em detergente ácido (FDA, 90%), matéria mineral (MM, 60%), lignina (LIG, 50%), hemicelulose (HEM, 60%), matéria orgânica (MO, 60%), extrato etério (EE, 50%), carboidratos totais (CHOT, 30%) e celulose (CEL, 10%) (Tabela 3). Parâmetros fermentativos como pH, carboidratos solúveis (CHOSL), nitrogêncio amoniacal ($N\text{-}NH_3$), ácido lático, ácido

acético, ácido butírico e estabilidade aeróbica estavam presentes em 80, 40, 50, 40, 50,40,30% dos estudos, respectivamente (Tabelas 2 e 4).

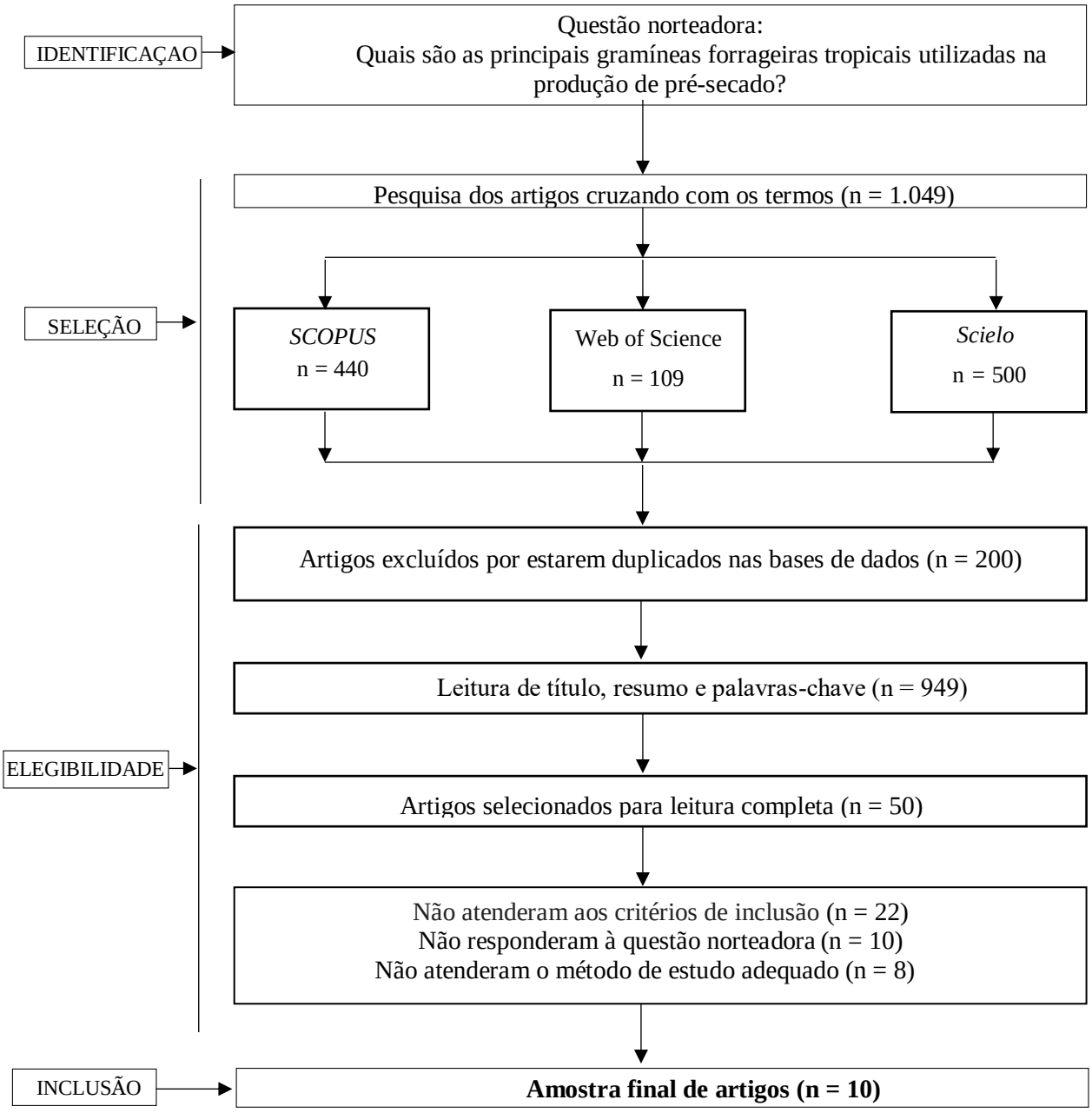


Figura 1. Fluxograma do método de seleção da amostragem final da revisão integrativa.

Tabela 2. Principais gramíneas forrageiras tropicais utilizadas na produção de pré-secado.

Autor/ano	País	Duração	Nome comum	Nome científico	Tratamentos	Nível de evidência
Sousa et al. (2006)	Brasil	90 dias	capim-tifton 85	*Cynodon* spp.	As dietas, isonitrogenadas, foram formuladas para conter aproximadamente 12% de PB e uma relação volumoso: concentrado de 60:40. Como fonte de volumoso utilizaram-se pré-secado de capim-tifton 85 e silagem de sorgo do híbrido forrageiro AG 2002 (Agroceres) nas proporções 100:0, 68:32, 34:66 e 0:100, respectivamente, com base na MS.	1
Gomes et al. (2006)	Brasil	65 dias	capim-tifton 85	*Cynodon* spp.	1 - capim-Elefante picado (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Cameron), de média maturidade, 2 - pré-secado de capim-tifton 85 (*Cynodon* spp.), 3 - feno de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf), 4 - feno de capim-braquiária e concentrado 1 fornecido a 0,5% PV, e 5 - feno de capim-braquiária e concentrado 2 fornecido a 1% PV.	1
			capim-pomar	*Dactylis glomerata*		
Borreani et al. (2007)	Itália	1 ano	festuca vermelha	*Festuca rubra*	Feno de campina natural colhido tardio com adição de e 5,1 kg de MS por vaca e, pré-secado de campina natural com corte precoce 3,5 kg de MS por vaca de concentrado.	1
			Aveia amarela	*Trisetum flavescens*		
Pereira et al. (2007)	Brasil	90 dias	capim-tifton 85	*Cynodon* spp.		1

					Pré-secado de capim-tifton 85 (*Cynodon* spp.) + Concentrado (fubá de milho e grão de soja moído) na proporção 60:40.	
Arriola et al. (2015)	Florida (USA)	112 dias	Grama-bermuda	*Cynodon* spp.	Uso de quatro inoculantes no pré-secado de grama bermuda Tifton 85(inoculante *Buchneri* 500, inoculante Biotal Plus II, inoculante de Silagem II, inoculante Silo King).	1
Guimarães et al. (2016)	Brasil	86 dias	capim-tifton 85	*Cynodon* spp.	A gramínea Tifton-85 (*Cynodon* spp.) foi cortada com 30 dias de crescimento para produção da haylage e permaneceu no campo até atingir 70% de matéria seca (MS), foi adicionado aditivo biológico Silobac® (2g do produto em 2L de água para inocular cada tonelada de forragem destinada à ensilagem), totalizando 56 dias de armazenamento.	1
Costa et al. (2019)	Brasil	56 dias	capim-tifton 85	*Cynodon* spp.	Os tratamentos avaliados consistiram nos tempos de armazenamento 1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias do pré-secado de capim-tifton-85 (com aditivo biológico Silobac® aspergido).	1
Galeano et al. (2022)	Brasil	90 dias	capim-tamani	*Panicum maximum*	Monocultivo de capim Tamani, capim Tamani + Crotalaria ochroleuca, capim Tamani + feijão-caupi e capim Tamani + soja e capim Tamani + feijão bóer.	1

Silva et al. (2023)	Brasil	60 dias	capim-tanzânia	*Panicum maximum*	Filmes plásticos de diferentes espessuras foram testados no envoltório de capim-tanzânia, filme plástico de polietileno de 27 µm e três filmes de PVC, que tinham 10 µm, 11 µm e 13 µm.	1
Edvan et al. (2023)	Brasil	90 dias	capim-tanzânia	*Panicum maximum*	Quatro grupos de pré-secado de capim-tanzânia que variaram quanto ao teor de MS da seguinte forma: planta *in natura* (não desidratada), 400, 500 e 600 g kg-1 de MS (desidratada no campo até atingir o teor de MS do tratamento).	1

Tabela 3. Características químicas (g/Kg de MS) das gramíneas pré-secadas utilizadas na produção de pré-secado.

Autor/ano	Espécies	MS (g/Kg de MN)	PB	CHOSL	EE	MM	FDN	FDA	CEL	HEM	LIG	MO
Sousa et al. (2006)	*Cynodon* spp.	536,5	59,9	85,71	18,5	-	783,7	446,7	-	337,0	75,1	935,6
Gomes et al. (2006)	*Cynodon* spp. *Dactylis glomerata*	467,1	169,7	71,41	28,9	87,3	642,2	319,8	-	-	58,0	912,7
Borreani et al. (2007)	*Festuca rubr Trisetum flavescens*	522,0	107,0	-	21,0	110	570,0	386,0	-	-	59,0	636
Pereira et al. (2007)	*Cynodon* spp.	542,5	57,7	85,23	13,5	-	792,8	444,4	-	348.4	77,8	923,5
Arriola et al. (2015)	*Cynodon* spp.	536,5	188,8	-	-	-	691,0	321,0	-	352	-	-
Guimarães et al. (2016)	*Cynodon* spp.	947,1	127,1	-	-	91,5	547,7	224,8	-	3229	-	-
Costa et al. (2019)	*Cynodon* spp.	622,8	173,3	-	28,7	-	723,3	320,4	-	402,9	30,2	-
Galeano et al. (2022)	*Panicum maximum*	669,6	57,4	-	-	86,8	700,8	310,5	239,2	394,8	77,6	-
Silva et al. (2023)	*Panicum maximum*	655,0	140,9	-	-	64,8	857,4	493,3	-	-	-	935,1
Edvan et al. (2023)	*Panicum maximum*	581,6	99,9	45,4	-	71,0	653,9	-	-	-	-	943,6

MN – matéria natural; MS - matéria seca; PB - proteína bruta; EE - extrato etéreo; MM - matéria mineral; FDN - fibra em detergente neutro; FDA - fibra em detergente ácido; CEL – celulose; HEM – hemicelulose; LIG – lignina; MO - matéria orgânica; CHOSL - carboidratos solúveis.

Tabela 4. Parâmetros fermentativos das principais gramíneas utilizadas para pré-secado, ácidos orgânicos (g/kg de MS), pH, estabilidade aeróbica

Autor/ano	Espécies	pH	N-NH_3	Ácido lático	Ácido acético	Ácido butírico	Ácido propiônico	Microbiologia	Quebra de estabilidade aeróbica
Sousa et al. (2006)	*Cynodon* spp.	4,37	-	-	-	-	-	-	-
Gomes et al. (2006)	*Cynodon* spp.	-	-	-	-	-	-	-	-
Borreani et al. (2007)	*Dactylis glomerata* *Festuca rubr* *Trisetum flavescens*	5,13	50,6	11,8	6,4	0,8	-	-	-
Pereira et al. (2007)	*Cynodon* spp.	4,37	-	-	-	-	-	-	-
Arriola et al. (2015)	*Cynodon* spp.	5,37	-	10,4	2,8	-	-	-	Sim
Guimarães et al. (2016)	*Cynodon* spp.	-	-	-	-	-		-	-
Costa et al. (2019)	*Cynodon* spp.	4,70	22,4	-	-	-	-	-	-
Galeano et al. (2022)	*Panicum maximum*	4,53	103,6	22,4	28,9	1,3	2,7	-	-
Silva et al. (2023)	*Panicum maximum*	5,83	8,5	26,30	1,40	1,0	1,50	5,40 UFC g^{-1}	Não
Edvan et al. (2023)	*Panicum maximum*	6,37	3,5	-	48,9	3,2	4,1	5,95 UFC g^{-1}	Não

g - gramas; Kg - quilograma; MS - matéria seca; N-NH_3 - nitrogênio amoniacal.

4. DISCUSSÃO

Os estudos verificados nesta revisão apresentam alto grau de confiança em função do planejamento e critério de busca cientifica. Além de todas as etapas passarem pela análise de dois revisores, garantindo assim a confiabilidade dos dados apresentados e certificando a inclusão de estudos que não induz a revisão.

Depois da leitura na integra a maioria dos estudos que foram excluídos pelos revisores foi por ser utilizado outras técnicas de conservação com gramíneas que não era o pré-secado. Trabalhos utilizaram o pré-secado de capim-tifton 85 associado a silagem de sorgo fornecidos conjuntamente na alimentação de bovinos, porém são limitadas as pesquisas envolvendo a utilização desses alimentos como fonte de volumosos, incluindo a avaliação dos mesmos e a resposta fisiológica do animal ao consumir esse alimento (Pereira et al., 2007).

Outros estudos foram excluídos porque apresentavam leguminosas como fonte de forragem para a produção do pré-secado. Os primeiros estudos com o pré-secado no Brasil datam de 2006, como forma de conservar forragem em substituição a tradicional silagem para alimentar bovinos de corte (Sousa et al., 2006). Houve uma variação na duração dos experimentos publicados, porém, 80% dos estudos foram realizados no prazo até três meses e 20 % em até ano. Estudos com a técnica de conservação da pré-secagem tendem a durar de 90 a 120 dias, visto que a maioria das pastagens já estão preestabelecidas e no ponto de corte para confecção dos fardos.

As principais gramíneas forrageiras utilizadas na produção do pré-secado foram tifton 85 (*Cynodon* spp.) e tanzânia (*Panicum maximum*). Essas gramíneas apresentam grande potencial de produção e são amplamente utilizadas no pastejo direto, com alta capacidade adaptatica às regiões tropicais ao redor do mundo e, com potencial para produção de feno e pré-secado (Edvan et al., 2023). As cultivares do gênero *Cynodon* ganharam destaque nesse estudo provavelmente por terem uma boa produtividade e pelo elevado valor nutritivo, alta produção de MS, rápida taxa de crescimento, além de colmos finos (Sousa et al., 2006).

As gramíneas forrageiras do gênero Brachiaria são as mais usadas no Brasil, ocupando, aproximadamente, 85% das áreas de pastagens cultivadas. Deste total, o capim marandu ocupa 50%, sendo considerado como excelente opção para formação de pastos (Medica et al., 2016). Contudo, cultivares como o capim-Marandu (*Brachiaria brizantha*) não apareceu no rol de gramíneas tropicais utilizadas na confecção do pré-secado, provavelmente por ser uma gramínea com características de porte médio-baixo não utilizada comumente para conservação e sim para pastejo direto (Macedo, 2006).

Dos tratamentos aplicados nas pesquisas 70% utilizaram aditivos nas gramíneas pré-secadas o que incluiu inoculantes bacterianos ou concentrados. Os trabalhos que não continha nenhum aditivo também tiveram resultados relativamente satisfatórios, quando comparado o pré-secado de tifton 85 e outros volumosos, o pré-secado apresentou uma digestibilidade aparente superior (Gomes et al., 2006). Silva et al (2023) observou que o pré-secado de capim-tanzânia envolto de filme de polietileno de espessura 13 microns de espessura apresentou a menor população de enterobactérias, tornando-o mais seguro para uso na alimentação animal.

A maioria dos experimentos ocorreu no Brasil (80%), pois o país possui regiões caracterizadas por chuvas irregulares, que são concentradas em um curto período do ano (Schmidt et al., 2018), ocasionando estacionalidade na produção de forragem necessitando a utilização de técnicas de conservação.

O pré-secado constitui uma alternativa para a conservação de plantas forrageiras utilizadas na alimentação de ruminantes, os efeitos ligados à composição química, consumo e desempenho animal são variáveis que podem ser influenciadas pelo sistema de produção, espécies forrageiras e animais, sendo necessários alguns cuidados ao recomendar está pratica (Amorim et al., 2017). A falta de padronização nas metodologias experimentais continua sendo um desafio para a conservação e disponibilização de um produção de boa qualidade nutricional e microbiológica. Adaptações metodológicas ou uso na integra de metodologia para avaliação de silagens foram comumente utilizadas nos estudos analisados, principalmente no que concerce aos parâmetros fermentativos.

5. Limitações e propostas para futuras pesquisas

Uma das limitações dessa revisão integrativa é que apesar da técnica do pré-secado ser utilizada a bastante tempo, os artigos encontrados foram limitados, mostrando assim que carece de mais estudos, principalmente em como esse método de conservação afeta na alimentação dos ruminantes. Também é notório que a maioria dos estudos selecionados não forneceu todos os dados de parâmetros fermentativos, e nem houve uma padronização das unidades do experimento, sugerindo assim uma uniformização dos dados apresentados para estudos futuros.

Nesse sentido, com o intuito de melhorar a qualidade das gramíneas tropicais conservadas em forma de pré-secado, pesquisas envolvendo o uso de aditivos vem se expandindo. Estudos usando enzimas fibrolíticas vêm se destacando na nutrição de ruminantes. O uso de enzimas na alimentação animal é uma biotecnologia que passou a fazer parte da suplementação desses animais no quesito ganho de peso, e isso foi constatado por Burroughs

em 1960. Enzimas estas que são extraídas de fungos ou bactérias, que atuam em conjunto com as enzimas produzidas pelos microrganismos do rúmen (Martins et al., 2007).

As enzimas fibrolíticas são utilizadas na ensilagem visando aumentar a eficiência do processo fermentativo, colaborando assim com a atuação de microrganismos que são desejáveis, como no caso das bactérias produtoras de ácido lático (Muck e Kung Jr., 1997; Kung Jr., 2000). Consequente a isso Loures et al. (2005), destacou as principais enzimas fibrolíticas utilizadas, como as hemicelulases, celulases, pectinases e xilanases, atuam de forma a disponibilizar açúcares simples como fonte de nutrientes para as bactérias fermentadoras. O uso das enzimas fibrolíticas que são produzidas por culturas de fungos filamentosos na alimentação de ruminantes, tem mostrado resultados positivos, com aumento na digestibilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro, na produção de leite e também no teor de gordura do leite (Schingoethe et al., 1999).

A adição de enzimas fibrolíticas à silagem de milho e ao feno de tifton favoreceu o aumento na atividade da β-1,4-endoglucanase no fluido ruminal nos primeiros tempos de incubação, também foi constatado a atividade enzimática média da β-1,4-endoglucanase no fluido ruminal foi maior nas dietas contendo silagem de milho (Martins et al., 2006).

A adição de xilanase aumentou a degradação da celulose e tendeu a aumentar a degradação da FDA. O uso de múltiplas enzimas (celulase, xilanase e glucose) aumentou a degradação ruminal da FDN e da MS, sem afetar as demais frações do alimento (Antônio et al., 2018).

Diante do exposto, observa-se a necessidade de estudos da utilização das enzimas fibrolíticas no pré-secado de gramíneas tropicais, visando potencializar a atividade das enzimas produzidas pelos microrganismos do rúmen, estimulando a degradação da fibra, aumento na digestibilidade MS e melhor desempenho animal.

6. CONCLUSÕES

As principais gramíneas forrageiras utilizadas na produção de pré-secado pertencem aos gêneros *Cynodon* spp. e *Panicum* spp., destacando-se o capim-tifton 85 e o capim-tanzânia, respectivamente. Ao redor do mundo a técnica de conservação em forma de pré-secagem aos poucos vem sendo adotada com o uso de aditivos, buscando melhorar os parâmetros fermentativos e qualidade do material.

REFERÊNCIAS

Amorim, D.S., Carneiro, M.S.S., Nascimento, R.R., Silva, A.L. 2017. Pré-secado: uma alternativa para aumentar a segurança alimentar dos rebanhos no período de escassez de forragem. Revista Electrónica de Veterinária, 18(11), 1-13.

Antonio, G.F.G.M., Valle, D.A.T., Campana, M., Morais, D.G.P.J. 2018. Efeitos de enzimas fibrolíticas sobre a degradação in situ da matéria seca e da fibra de forrageiras. Agrarian, 11(42), 363–370.

Arriola, K.G., Queiroz, O.C.M., Romero, J.J., Casper, D., Muniz, E., Hamie, J., Adesogan, A.T. 2015. Effect of microbial inoculants on the quality and aerobic stability of bermudagrass round-bale haylage, Journal of Dairy Science, 98, 478-485.

Borreani, G.D., Giaccone, D., Mimosi, A., Tabacco, E. 2007. Comparison of Hay and Haylage fromPermanent Alpine Meadows in Winter Dairy Cow Diets. Journal of Dairy Science, 90, 5643-5650.

Costa, M.L.L., Resende, D.C.S.A., Duarte, H.N.I., Lima, R.N., Moreira, R.G. 2019. Valor nutricional da silagem pré-secada de capim Tifton - 85. Revista Brasileira de Meio Ambiente, 6(1), 026-033.

Edvan, R.L., Santos, F.L.D., Nascimento, R.R.D., Barros, D.M.A., Santos, E.M., Azevedo, F.L.D., Barros, L.D.S., Nascimento, K.D.S., Dias-Silva, T.P., Araujo, M.J. 2023. Quality of Tanzania grass (*Panicum maximum*) haylage in relation to plant dry matter content. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, 55(1) 38-52.

Fischer, T.D., Suliman, N.F., Ziegler, S.J., Bussler, A.P.K., Benetti, R., Pereira, E.A. Importância das características morfofisiológicas na seleção e ingestão de forragem pelos animais em pastejo. *in*: XVII Jornada de Extensão. 2016. Revisão de literatura.

Galeano, E.S.J., Fernandes, T., Junior, M.A.P.O., Alves, J.P., Retore, M., Orrico, A.C.A., Machado, L.A.Z., Vicente, E.F., Cecon, G. 2022. Tamani grass-legume intercropping can improve productivity and composition of fodder destined to haylage or hay. Ciência Rural, 52(9), e20210482.

Gomes, S.P., Leao, S.C., Valadares, F., Paulino M.F. 2006. Consumo, digestibilidade e produção microbiana em novilhos alimentados com diferentes volumosos, com e sem suplementação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(5), 884–892.

Guimarães, T.C., Rezende, A.S.C., Costa, M.L.L., Ferreira, M.G., Blanco-soto, B., Melo, M.M. 2016. Perfil hematológico de éguas Quarto de Milha alimentadas com feno ou *haylage* de Tifton-85 (*Cynodon* spp.). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 68(6), 1479–1486.

Horst, E.H., Neumann, M., Mareze, J., Leão, G.F.M., Dochwat. A. 2016. Silagem pré-secada de cereais de inverno em estádio de pré-florescimento: Revisão. Pubvet, 11, 415-423.

Jimenez filho, D.L. 2013. Fenos e pré-secados. PUBVET, 7(25), 1639.

Loures, D.R.S., Nussio, L.G., Paziani, S.D.E.F., Pedroso, A.D.E.F., Mari, L.J., Ribeiro, J.L., Zopollatto, M., Schmidt, P., Junqueira, M.C., Packer, I.U., Campos, F.P. 2005. Efeito de enzimas fibrolíticas e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. Revista Brasileira de Zootecnia, 34(3), 736–745.

Macedo, M.C.M. 2006. Aspectos edáficos relacionados com a produção de Brachiaria brizantha cv. Marandu. In: BARBOSA, R. A. (ED). Morte de pastos de brachiárias. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte, 36-65.

Martins, A.D.S., Vieira, P.D.F., Berchielli, T.T., Prado, I.N., Garcia, J.A.S. 2006. Eficiência de síntese microbiana e atividade enzimática em bovinos submetidos à suplementação com enzimas fibrolíticas. Revista Brasileira de Zootecnia, 35(3), 1194-1200.

Martins, A.D.S., Vieira, F.D.A., Berchielli, T.T., Prado, D.N.I., Lempp, B., Paula, D.C.M. 2007. Degradabilidade in situ e observações microscópicas de volumosos em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas exógenas. Revista Brasileira de Zootecnia, 36(6), 1927-1936.

Medica, J.A.S., Reis, N.S., Santos, M.E.R. 2017. Caracterização morfológica em pastos de capim-Marandu submetidos a frequências de desfolhação e níveis de adubação. Ciência Animal Brasileira, 18. https://doi.org/10.1590/cab18040460.

Muck, R.E., Kung JR., L. 1997. Effects of silages additives on ensiling. In: the silage: field to feed bunk north american conference. National Regional Agricultural Engineering Service, 187-199.

Guimarães, T.C., Rezende, A.S.C., Costa, M.L.L., Ferreira, M.G., Blanco-soto, B., Melo, M.M. 2016. Perfil hematológico de éguas Quarto de Milha alimentadas com feno ou *haylage* de Tifton-85 (*Cynodon* spp.). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 68(6), 1479–1486.

Horst, E.H., Neumann, M., Mareze, J., Leão, G.F.M., Dochwat. A. 2016. Silagem pré-secada de cereais de inverno em estádio de pré-florescimento: Revisão. Pubvet, 11, 415-423.

Jimenez filho, D.L. 2013. Fenos e pré-secados. PUBVET, 7(25), 1639.

Loures, D.R.S., Nussio, L.G., Paziani, S.D.E.F., Pedroso, A.D.E.F., Mari, L.J., Ribeiro, J.L., Zopollatto, M., Schmidt, P., Junqueira, M.C., Packer, I.U., Campos, F.P. 2005. Efeito de enzimas fibrolíticas e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. Revista Brasileira de Zootecnia, 34(3), 736–745.

Macedo, M.C.M. 2006. Aspectos edáficos relacionados com a produção de Brachiaria brizantha cv. Marandu. In: BARBOSA, R. A. (ED). Morte de pastos de brachiárias. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte, 36-65.

Martins, A.D.S., Vieira, P.D.F., Berchielli, T.T., Prado, I.N., Garcia, J.A.S. 2006. Eficiência de síntese microbiana e atividade enzimática em bovinos submetidos à suplementação com enzimas fibrolíticas. Revista Brasileira de Zootecnia, 35(3), 1194-1200.

Martins, A.D.S., Vieira, F.D.A., Berchielli, T.T., Prado, D.N.I., Lempp, B., Paula, D.C.M. 2007. Degradabilidade in situ e observações microscópicas de volumosos em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas exógenas. Revista Brasileira de Zootecnia, 36(6), 1927-1936.

Medica, J.A.S., Reis, N.S., Santos, M.E.R. 2017. Caracterização morfológica em pastos de capim-Marandu submetidos a frequências de desfolhação e níveis de adubação. Ciência Animal Brasileira, 18. https://doi.org/10.1590/cab18040460.

Muck, R.E., Kung JR., L. 1997. Effects of silages additives on ensiling. In: the silage: field to feed bunk north american conference. National Regional Agricultural Engineering Service, 187-199.

Muller, C.E. Equine. 2011. ingestion of haylage harvested at different plant maturity stages.Applied Animal Behaviour Science, 134,144-151.

Pereira, J. Manual de silagem de milho: manual de orientação. São Paulo. 2021. 23p. Disponívelem:<https://nogueira.com.br/download.php?file=manual_de_silagem_2021_por_laminas.pdf>. Acesso em 14 de nov de 2023.

Pereira, J.R.A., Reis, R.A. 2001. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, 1,64-86.

Pereira, O.G., Sousa, V.G.D., Filho, S.D.C.V., Ribeiro, K.G., Pereira, H.D., Cecon, P.R. 2007. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos de corte alimentados com

dietas contendo silagem de sorgo e pré-secado de capim-tifton 85. Revista Brasileira de Zootecnia, 36(6), 2143–2151.

Pereira, T.L.E., Bueno, I.C., Herling, R.V. Tecnologias para conservação de forragens: fenação e ensilagem. Pirassununga: FZEA-USP. Disponível em: http://media.wix.com/ugd/58f11a_2255456c38f24515a3fa7fe3902e19b0.pdf. Acesso em: 14 nov. 2023.

Schingoethe, D.J., Stegeman, G.A., Treacher, R.J. 1999. Response of lactanting dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. Journal of Dairy Science, 82(5), 996-1003.

Schmidt, D.M., Lima, K.C., Jesus, E.S. 2018. Variabilidade climática da disponibilidade hídrica na região semiárida do estado do Rio Grande do Norte. Anuário do Instituto de Geociências, 41(3), 483-491.

Silva, A.L., Santos, E.M., Edvan, R.L., Oliveira, J.S.O., Araujo, M.J., Bezerra, L.R., Pereira, D.M., Nascimento, R.R.D., Barros, L.D.S., Leite, G.M., Neto, J.M.C., Cruz, G.F.L., Barros, D.M.A., Silva, K.B.D. 2023. Tanzânia grass haylage wrapped in films of different thicknesses. Journal of Agricultural Research, 1-19.

Souza, V.G., Pereira, O.G., Filho, S.D.C.V., Ribeiro, K.G., Pereira, D.H., Cecon, P.R., Moraes, S.A.D. 2006. Efeito da substituição de pré-secado de capim-tifton 85 por silagem de sorgo no consumo e na digestibilidade dos nutrientes e no desempenho de bovinos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, 35(6), 2479–2486.

Van Soest, P.J. 1994. Nutrition ecology of ruminants. Ithaca. Cornell University Press, 476 p.

Fluck, A.C., Schafhäuser Júnior, J., Alfaya-Júnior, H., Costa, O.A.D., Farias, G.D., Scheibler, R.B., Rizzo, F.A., Manfron, J.A.S., Fioreze, V.I., Rösler, D.C. 2018. Composição química da forragem e do ensilado de azevém anual em função de diferentes tempos de secagem e estádios fenológicos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 70(6), 1979-1987.

CAPÍTULO II

Pré-secado de gramíneas tropicais com adição de enzima fibrolítica

PRÉ-SECADO DE GRAMÍNEAS TROPICAIS COM ADIÇÃO DE ENZIMA FIBROLÍTICA

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da adição de xilanase sobre a estabilidade aeróbica, composição química, parâmetros fermentativos e microbiológicos de gramíneas tropicais conservadas em forma de pré-secado. Para tanto, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 × 2, quatro cultivares de gramíneas pré-secadas (*Andrapogon gayanus* cv. Planaltina, *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) com e sem adição da enzima xilanase. Não houve interação (P = 0,5403) entre enzima x cultivar nos valores de pH na abertura do pré-secado das diferentes gramíneas tropicais. Não ocorreu a quebra da estabilidade aeróbica durante 120 h de exposição do pré-secado ao ar. Houve efeito significativo da cultivar sobre o teor de ácido lático, e propiônico, com maior fermentação no capim-mombaça. Para o ácido butírico o capim-massai apresentou maior valor. Houve diferença (P < 0,0001) no teor de MS entre as cultivares, com superioridade para Massai e Marandu. O capim-andrapogon com e sem xilanase apresentou o maior teor de PB. O capim-marandu apresentou o menor teor de fibra em detergente neutro, e o menor de fibra em detergente acído. Menores quantidades de levedura foram observadas nos pré-secados de capim-Andrapogon com xilanase. Portanto, conclui-se que a enzima xilanase pode ser eficaz na conservação das gramíneas em forma de pré-secado.

Palavras-chave: Ácidos orgânicos. composição química. estabilidade aeróbia. pré-secado.

TROPICAL GRASSES HAYLAGE WITH ADDITION OF FIBROLYTIC ENZYME

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of adding xylanase on the aerobic stability, chemical composition, fermentative and microbiological parameters of tropical grasses preserved in pre-dried form. To this end, a completely randomized experimental design was used, in a 4 × 2 factorial scheme, four cultivars of pre-dried grasses (*Andrapogon gayanus* cv. Planaltina, *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai and *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) with and without addition of the xylanase enzyme. There was no interaction (P = 0.5403) between enzyme x cultivar in pH values at the opening of pre-drying of different tropical grasses. There was no break in aerobic stability during 120 h of exposure of the pre-dried product to air. There was a significant effect of the cultivar on the lactic and propionic acid content, with greater fermentation in Mombaça grass. For butyric acid, Massai grass presented the highest value. There was a difference (P < 0.0001) in the DM content between the cultivars, with superiority for Massai and Marandu. Andrapogon grass with and without xylanase had the highest CP content. Marandu grass had the lowest neutral detergent fiber content, and the lowest acid detergent fiber content. Lower amounts of yeast were observed in pre-dried Andrapogon grass with xylanase. Therefore, it was concluded that the xylanase enzyme can be effective in preserving grasses in pre-dried form.

Keywords: Aerobic stability. Chemical composition. Haylage. Organic acids.

1. INTRODUÇÃO

A alimentação é um dos pontos mais importantes dentro do sistema de produção animal, pois ela influencia diretamente o potencial produtivo do animal (Ferreira et al., 2013). Especialmente em ruminantes, as gramíneas tropicais seguem sendo a base principal da alimentação em função da capacidade de estabelecimento nas mais diversas regiões de clima tropical, do alto potencial produtivo e do menor custo de produção (Oliveira et al., 2016).

Contudo, apesar do sistema de produção de ruminantes com base em pastagens ser o mais econômico, é possível observar que nos trópicos ocorre uma alta variação na disponibilidade de forragem ao longo do ano, o que está associado às variações nas condições climáticas de regiões tropicais que são caracterizadas por irregularidade, espacial e temporal, na distribuição das chuvas (Nimer, 1979; Gomes, 2023), reduzindo a qualidade e quantidade de alimento para os rebanhos no período seco do ano (Cremilleux et al., 2022).

Deste modo, com o intuito de conservar o excedente da forragem na época de maior disponibilidade (período das chuvas) e consequente fornecimento na época de escassez (período de seca), é fundamental o uso de técnicas de conservação de forragem (Gurgel et al., 2017), sendo elas a fenação, silagem e a pré-secagem. Ambas buscam por preservar a forragem, com minimização de perdas, mantendo o valor nutricional o mais próximo da forma *in natura* (Zago et al., 2019). Nesse contexto, o pré-secado também conhecido como haylage, tem como característica a conservação do bom valor nutritivo da forragem, sendo uma técnica simples e acessível aos pecuaristas, diferenciando-se como um método de conservação intermediário entre a fenação e a ensilagem. A técnica consiste na retirada parcial de água da planta (não atinge o ponto de feno) com teores de matéria seca entre 400 a 600 g/kg reduzindo assim as perdas no campo (Edvan et al., 2023). Assim, o objetivo da técnica da pré-secagem é controlar fermentações indesejáveis através da diminuição da atividade de água ou elevação da pressão osmótica (McDonald et al., 1991; Amorim et al., 2017) sendo armazenanados em forma de fardos envoltos em capa plástica, o que proporciona condições ideais para o crescimento de bactérias do ácido láctico (BAL), as quais são benéficas para a conservação da forragem (Edvan et al., 2023).

Partindo do pressuposto que, inevitavelmente ocorrem perdas na qualidade do material conservado, tem se buscado melhorar a digestibilidade das forragens conservadas. O uso de enzimas fibrolíticas na alimentação de ruminantes tem se tornado uma estratégia global a fim de melhorar o desempenho dos animais. O uso de enzimas fibrolíticas visa facilitar o ataque e aderência da microbiota às partículas do alimento, diminuindo o tempo de colonização e,

disponibilizando maior quantidade de nutrientes com possível redução da produção e emissão de gases de efeito estufa (GEE). As enzimas fibrolíticas são extraídas de fungos ou bactérias, através de um processo fermentativo, atuando em conjunto com as enzimas produzidas pelos microrganismos do rúmen. As principais enzimas fibrolíticas utilizadas, são as hemicelulases, celulases, pectinases e xilanases, as quais atuam disponibilizando açúcares simples como fonte de nutrientes para as bactérias fermentadoras (Muck e Kung Jr., 1997).

Dessa forma, hipotetizamos que a enzima xilanase pode ser capaz de potencializar o processo de degradação da fração fibrosa das gramíneas pré-secadas, disponibilizando maiores quantidades de nutrientes para serem fermentados pela microbiota ruminal. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da adição de enzima fibrolítica sobre a estabilidade aeróbica, composição química, parâmetros fermentativos (pH, nitrogênio amoniacal e ácidos orgânicos) e microbiológicos de gramíneas tropicais conservadas em forma de pré-secado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido na cidade de Bom Jesus, Piauí, Brasil, com avaliações no Laboratório de Nutrição Animal. As gramíneas forrageiras avaliadas e utilizadas no experimento foram provenientes de área de pastagem estabelecida em 2016, localizada no Campo Agrostológico do *Campus* Professora Cinobelina Elvas (CPCE), Universidade Federal do Piauí (UFPI), localizado na cidade de Bom Jesus, Piauí, Brasil. A cidade está situada ao Sul do estado do Piauí, na microrregião do Alto-Médio Gurguéia, com latitude 09º04’28” sul e longitude 44º21’31” oeste, com altitude de 277 metros. A região de estudo possui classificação climática Aw, com chuvas de verão e inverno seco de acordo com a classificação Köppen de (1936).

2.2. Gramíneas e produção do pré-secado

Quatro forrageiras tropicais (*Andrapogon gayanus* cv. Planaltina, *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) foram utilizadas para produção de pré-secado. As espécies forrageiras foram cortadas antes de atingir o estágio fenológico da floração. O material cortado de forma manual foi colocado sobre lona plástica para desidratação até atingir o teor de umidade de 50%. Durante o período de exposição ao sol a massa de forragem foi revolvida para uniformização da desidratação. Quando o material atingiu o nível de desidratação adequado (50% da matéria natural) foi recolhido para o

enfardamento em enfardadeiras manuais. Foram coletadas três amostras representativas dos capins na pré-secagem para a determinaçção da composição química antes do enfardamento e revestimento (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química das diferentes gramíneas tropicais *in natura*.

Variáveis	Cultivar			
	----------g Kg^{-1} MS----------			
	Planaltina	Mombaça	Massai	Marandu
Matéria seca (g Kg^{-1} MN)	366,0	315,4	334,5	284,9
Proteína brauta	82,7	62,2	77,4	68,6
Fibra em detergente neutro	768,1	773,8	771,2	724,5
Fibra em detergente ácido	375,4	413,5	414,1	360,1
Matéria mineral	43,3	64,2	56,6	58,5

MS - matéria seca; MN - matéria natural.

Antes do enfardamento, a enzima fibrolítica (xilanase) foi adicionada na dose de 1,8 g/Kg de MS, conforme indicação do fabricante. Assim, cada cultivar de gramínea foi submetida a dois tratamentos: sem e com a adição de enzima fibrolítica (Fibrozyme - ALLTECH – Empresa Biotecnológica de Produção Animal). O produto foi extraído dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum*. O produto foi composto de xilanase e de um surfactante (extrato de *Yucca echtigera*), veículo que tem a função de aumentar o contato das enzimas com o substrato.

Após a pré-secagem (500 g/kg de MS) (Edvan et al., 2023) acompanhada pelo método de forno micro-ondas (Souza et al., 2002) a forragem foi enfardada em enfardadeiras retangulares artesanais. Foram produzidos um total de 36 fardos com dimensões aproximadas de 20 cm × 25 cm × 16 cm (largura, comprimento e altura). Logo após essa etapa foram armazenados na fábrica de raçoes da Universidade Federal do Piauí na cidade de Bom Jesus – PI, e após 90 dias os fardos foram abertos e coletados cinco amostras de cada tratamento para as determinações de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH3), estabilidade aeróbia, teor de etanol e ácidos orgânicos, determinação microbiológica e composição química. As análises foram processadas no Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Microbiologia do CPCE/UFPI, ambos no município de Bom Jesus, Piauí.

2.3. Determinação de pH, nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e ácidos orgânicos

A determinação do pH foi realizada em duplicata, coletando-se aproximadamente 25 g de amostra do material pré-secado de cada tratamento e adicionado 100 ml de água destilada. Após 1 hora, foi feita a leitura de acordo com a metodologia descrita por Bolsen et al. (1992), com potenciômetro. Para a determinação de N-NH_3 das amostras, foi utilizada a metodologia conforme Bolsen et al. (1992). Os ácidos orgânicos foram determinados através do método citado por Kung Jr e Ranjit (2001): 10 ml de amostra foram diluídos a 10% em água destilada, acidificada com H_2SO_4 a 50% e filtradas em papel de filtro tipo Whatman. Em 2 ml do filtrado, foi adicionado 1 ml de ácido metafosfórico a 20% e 0,2 ml de ácido fênico a 0,1%. As amostras foram centrifugadas e, posteriormente, foram quantificados os ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) por cromatografia líquida de alta resolução em cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC), detector modelo SPD-10ª VP acoplado ao detector ultravioleta (UV), utilizando-se um comprimento de ondas de 210 nm.

2.4. Composição química

As amostras para determinação da composição química foram secas em estufa de circulação e renovação de ar, em temperatura máxima de 55 ºC, até peso constante. Foram moídas em moinho de facas com tela de 1 mm e armazenados em recipientes de saco plástico até a determinação química. Foram realizadas as determinações segundo os métodos descritos por AOAC (1990), para matéria seca (MS) em estufa sem circulação forçada de ar a 105 ºC (método 934.01), matéria mineral (MM) obtido pela queima das amostras no forno mufla a 600 ºC (método 942.05), para proteína bruta (PB) foi utilizada a técnica Kjeldhal (método 920.87). Para se determinar a concentração de carboidratos solúveis (CHOsol), foi utilizado o método do ácido sulfúrico concentrado, descrito por Dubois et al. (1956), com adaptações de Corsato et al. (2008). Para a extração, 100 mg de amostra seca e moída foram adicionadas a 100 mL de solução de etanol a 80% e colocada em aparelho de banho-maria a 80 °C durante 30 minutos. Posteriormente, o material foi filtrado, o resíduo sólido descartado e foi completado o volume para 500 mL com água destilada em balão volumétrico e homogeneizado o extrato etanólico. Em seguida, foram retiradas alíquotas de 2 mL do extrato etanólico, será adicionado 1 mL de solução de fenol a 5% e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Foi construída curva padrão com concentrações crescentes de solução de glicose a 0,01%, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 510 nm de absorbância. Os teores de CHOsol foram calculados em g x 100 mL^{-1}, com base na solução e posteriormente, ajustado com base na matéria seca de cada amostra

utilizada. Para a estimativa dos carboidratos totais (CHOT) utilizou-se a equação proposta por Sniffen et al. (1992): CHOT = 100 - (%PB + %EE + %MM).

2.5. Microbiologia e estabilidade aeróbica

A avaliação microbiológica foi realizada de acordo com as recomendações de González e Rodrigues (2003), coletando-se 25 g de amostra frescas adicionadas em 225 mL de água destilada e processadas em liquidificador por aproximadamente 1 minuto. Foi retirado 1 mL da mistura e se pipetado com a devida diluição (10-1 a 10-9). O plaqueamento foi realizado em duplicata para cada meio de cultura. As populações foram determinadas pela técnica seletiva de culturas em meio anaeróbio, onde se utilizaram: meio Ágar Rogosa para contagem de lactobacilos (após incubação de 48 horas em estufa à temperatura de 37° C), meio Ágar BDA (Batata Dextrose Ágar) acidificado com ácido tartárico a 1%, para contagem de leveduras e mofos (após 5 dias de incubação à temperatura ambiente), e o meio Ágar Brilliant Green Bile para contagem de enterobactérias (depois de incubação de 24 horas à temperatura de 35° C). As placas consideradas susceptíveis à contagem foram aquelas em que apresentarão valores entre 30 e 300 UFC (unidade formadora de colônia) em uma placa de Petri.

Para avaliar a estabilidade do material, os fardos pré-secados dos diferentes tratamentos foram levados para uma sala fechada com controle de temperatura (25 ºC). A temperatura ambiente da sala foi mensurada com termômetro localizado próximo fardos. O material foi exposto ao ar por um período de 120 horas, e durante esse período foi conferida a temperatura (ºC) superficial e interna do pré-secado. A temperatura superficial dos pré-secados foi aferida com auxílio de termômetro digital sem toque, enquanto, a temperatura da massa de forragem, com um termômetro digital de imersão, inserido a 10 cm no centro do pré-secado. A estabilidade aeróbica foi calculada como o tempo observado para que o pré-secado, após exposição ao ar, apresentasse um aumento de 2 °C em relação à temperatura ambiente, de acordo com Taylor e Kung Jr (2002).

2.6. Analise estatística dos dados

Os dados foram submetidos a análise de variância por meio do procedimento GLM do SAS (v. 9.4, SAS Inc., Cary, NC, USA), considerando um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, em esquema fatorial 4 × 2. O primeiro fator correspondeu a quatro cultivares de gramíneas pré-secadas: *Andrapogon gayanus* cv. Planaltina, *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, o

segundo fator com e sem xilanase. Quando significativos pelo teste F, os efeitos das fontes de variação e suas interações foram analisados pelo teste de Tukey, considerando significativo quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

Não houve interação significante cultivar × enzima, nem efeito da enzima sobre o teor de MS utilizando xilanase na dose de 1,8 g/Kg de MS de pré-secado. No entanto, houve diferença ($P < 0,0001$) no teor de MS entre as cultivares, com superioridade para Massai e Marandu em comparação ao Mombaça e o Andrapogon. Os teores de PB variaram em função da interação entre cultivar e enzima ($P = 0,0291$) (Tabela 2). O pré-secado de capim-andrapogon com e sem xilanase apresentou maior teor de PB (88,1 g/kg de MS).

O menor teor de FDN foi encontrado no pré-secado do capim-marandu (685,7 g/kg de MS), havendo assim uma redução da FDN quando comparados aos valores do capim antes da pré-secagem (Tabela 1). Na fração FDA, houve ação da enzima sobre a cultivar, onde o capim-marandu apresentou o menor valor (365 g/kg de MS).

Os pré-secados de capim-mombaça e capim-massai apresentaram teores de MM mais elevados, o que implica em maiores quantidades de minerais presentes no pré-secado após abertura. Os valores de CHOsol em todas as gramíneas pré-secadas além de reduzidos não apresentaram diferença significativa ($P = 0,4626$). Para os CHOT, não houve interação entre cultivar e enzima ($P = 0,5227$). Os pré-secados de Mombaça e Massai apresentaram os menores valores carboidratos totais 822,0 g/kg de MS e 829,8 g/ kg MS.

Tabela 2. Composição química (g/kg de matéria seca) do pré-secado de gramíneastropicais com e sem xilanase.

Variáveis (g/k de MS)	Cultivar				Enzima		Valor de P		
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Com	Sem	C	E	C×E
MS (g/kg MN)	394,3a	354,0b	409,9a	397,2a	387,3	390,4	<,0001	0,4535	0,4867
PB	88,1a	76,4b	64,8c	76,4b	77,8	75,0	<,0001	0,2618	0.0291
FDN	705,5ab	699,2ab	733,8a	685,7b	705,3	706,8	0,0190	0,8842	0,1713
FDA	392,4ab	390,6b	414,1a	365,4c	396,8a	384,4b	<,0001	0,0439	0,5466
MM	56,3c	73,1a	64,3b	46,1c	61,6	58,3	<,0001	0,1199	0,6107
CHOT	845,6a	822,0b	829,8ab	851,5a	833,7	840,8	0,0043	0,2467	0,5227
CHOSol	22,6	15,3	17,8	22,9	17,8	21,5	0,2173	0,2172	0,4626

Médias com diferentes letras nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; MS - Matéria seca; MN - Matéria natural; PB - Proteína bruta; FDN - Fibra em detergente neutro; FDA - Fibra em detergente ácido; MM - matéria mineral; TCHO – Carboidratos totais; CHOsol – Carboidratos solúveis; C – cultivar; E – enzima; C×E – interação entre cultivar e enzima.

Não foi observado interação (P > 0,05) cultivar x enzima sobre a concentração de ácidos orgânicos (Tabela 3). Porém, houve efeito significativo da cultivar sobre o teor de ácido lático (3,69 g/kg de MS) e propiônico (3,85 g/kg de MS), com maior fermentação no capim-Mombaça. Para o ácido butírico o capim-Massai apresentou maior valor (16,06 g/kg de MS). Houve interação (P = 0,0064) entre cultivar e enzima para o N-NH3 a fração moniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH_3) (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* do pré-secado de forrageiras tropicais com e sem xilanase.

Ácidos orgânicos	Cultivar				Enzima		Valor de P		
	---------- g Kg^{-1} MS ----------								
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Com	Sem	C	E	C × E
Láctico	3,28a	3,69a	3,09a	2,11b	3,21	2,88	0,0001	0,0829	0,1519
Acético	7,35	7,38	7,67	5,69	7,43	6,70	0,1237	0,312	0,5977
Propiônico	2,31b	3,85a	3,44ab	2,85ab	3,21	3,02	0,0161	0,5438	0,2080
Butírico	6,65c	13,22ab	16,06a	9,71bc	12,08	10,74	<,0001	0,2207	0,8890
N-NH_3	0,55	0,55	0,83	0,76	0,60	0,74	0,0026	0,0388	0,0064

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; C – Cultivar; E – Enzima; C × E - interação entre cultivar e enzima; N-NH_3 - Nitrogênio amoniacal.

Tabela 4. Temperatura interna e superficial, pH e perdas na abertura do pré-secado de diferentes gramíneas tropicais com e sem xilanase.

Variáveis	Cultivar				Enzima		Valor P		
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Com	Sem	C	E	C × E
TI (ºC)	23,9ab	24,2a	24,4a	22,8b	24,0a	23,6a	0,0275	0,2442	0,7578
TS (ºC)	22,2a	21,9a	21,9a	22,3a	22,2a	21,9a	0,8171	0,4682	0,1658
pH	4,89a	6,46a	5,93a	6,44a	6,34a	5,52a	0,2311	0,1528	0,5403
Perdas (%)	2,80b	3,86ab	2,98b	5,84a	3,83a	3,83a	0,0040	0,8967	0,3016

Médias com diferentes letras nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; TI - Temperatura interna; TS - Temperatura superficial; C – Cultivar; E – Enzima; C × E - interação entre cultivar e enzima.

Não houve diferença significativa nos valores de pH na abertura do pré-secado. Porém, os valores apresentaram uma variação de 4,89 a 6,46 entre os pré-secados das diferentes gramíneas, isso pode desencadear uma fermentação mais restrita.

As perdas observadas na abertura do pré-secado variaram entre as cultivares (P = 0,0040), sendo que o capim-Marandu apresentou uma maior perda (5,84 g/kg de MS). Não houve a quebra da estabilidade durante as 120 h de exposição do pré-secado ao ar (Figura 1).

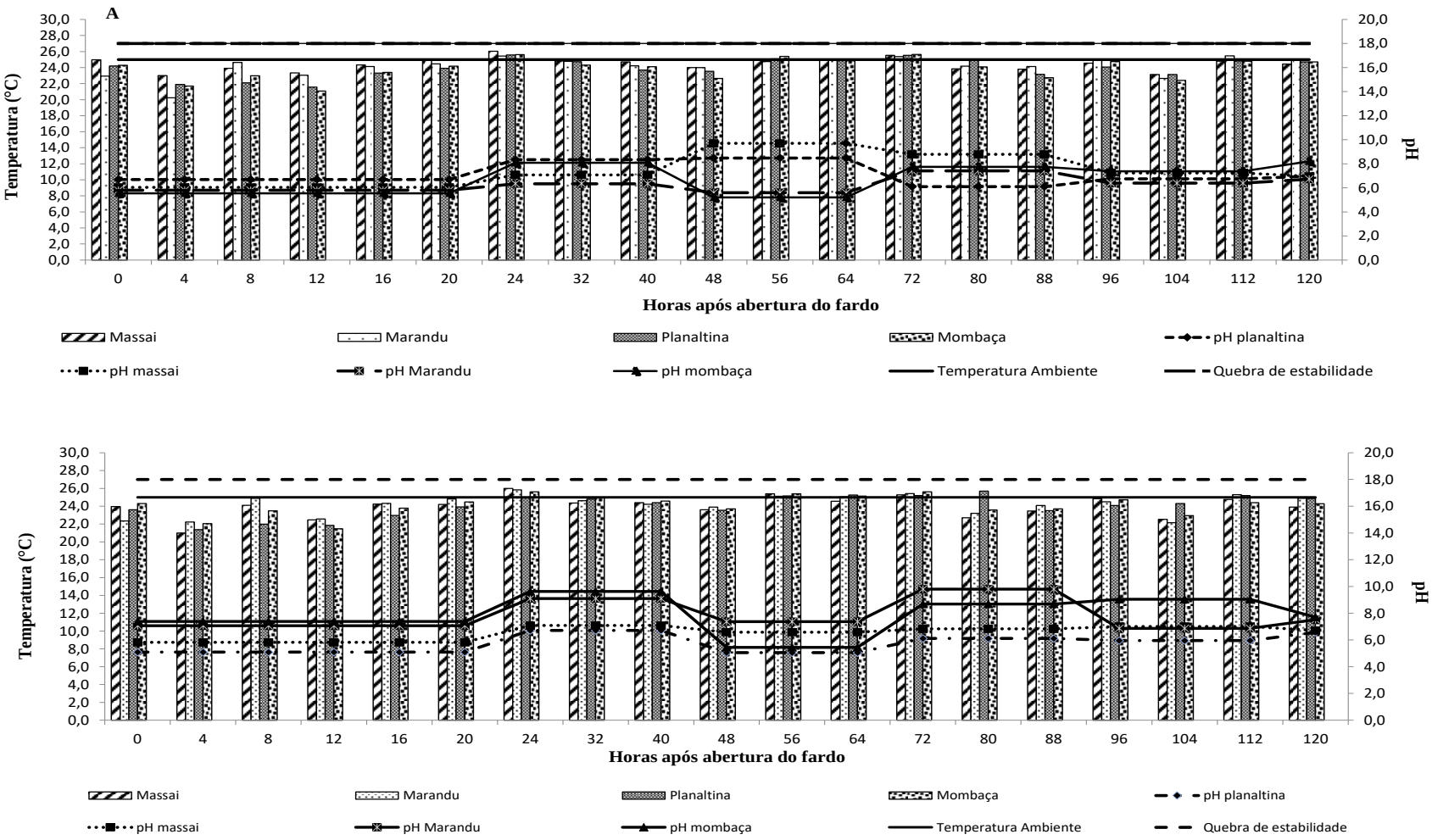


Figura 1. Estabilidade aeróbica do pré-secado de diferentes gramíneas tropicais com (A) e sem (B) xilanase.

Sobre a população microbiana do pré-secado (Tabela 6), observou-se interação cultivar x enzima (P = 0,0065) para BAL, levedura e mofo. O pré-secado de capim-Andrapogon sem enzima (5,76 log UFC g^{-1}) diferiu do capim-Marandu sem enzima (4,03 log UFC g^{-1}) em BAL. Não foi verificada presença de leveduras no pré-secado de capim-andrapogon com enzima.

Tabela 5. Quantificação microbiológica (log UFC g^{-1}) do pré-secado de gramíneas tropicais com e sem xilanase.

Tratamentos	Cultivar				Valor de P		
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	C	E	C x E
			BAL				
Com enzima	4,44ab	5,02ab	4,58ab	5,06ab	0,0919	0,7884	0,0065
Sem enzima	5,76a	5,20ab	4,36ab	4,03b			
			Levedura				
Com enzima	0,00d	2,86bc	0,91cd	5,81a	<,0001	<,0001	0,0006
Sem enzima	5,66a	5,80a	5,11ab	6,08a			
			Mofo				
Com enzima	5,61a	3,79a	5,73a	5,15a	0,4661	0,7803	0,0192
Sem enzima	5,11a	5,89a	4,82a	4,01a			

Médias com diferentes letras nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; UFC - Unidade formadora de colônia; C - Cultivar; E - Enzima; C × E - interação entre cultivar e enzima.

A fermentação que ocorreu ao longo dos 90 dias pelas bactérias lácticas não foi suficiente para a queda do pH a ponto de inibir a ação de microrganismos indesejáveis do pré-secado (Tabela 5).

Para as leveduras observou-se uma quantidade considerável no pré-secado sem adição da enzima, de 5,88 log UFC g^{-1} para o capim Mombaça, já no tratamento com adição de enzima houve baixa atividade das leveduras chegando a não ser verificado (zero) no capim-Andrapogon. Nos tratamentos com adição de enzima encontrou-se diferença entre as cultivares (P <,0001), sendo que o capim-Marandu apresentou a maior ação de leveduras.

Ainda no padrão microbiológico, foi verificado altas quantidades de mofo em todos os tratamentos, dando um indicativo da ocorrência da degradação dos açúcares residuais e do ácido lático que foi produzido durante a fase anaeróbica.

4. DISCUSSÃO

A diferença no teor de máteria seca observados entre as cultivares, com destaque para o Massai e Marandu, pode ser explicado pelo fato dessas gramíneas principalmente o Marandu apresentar produtividade elevada, bom valor nutritivo e persistência em períodos de estiagem, além de boa adaptação à maioria dos solos tropicais (Costa, 2001). Desse modo, os teores de MS do produto final em torno de 500 g/kg de MS, são passíveis de proporcionar melhor qualidade da forragem pré-secada. Diferente de outros métodos como a fenação que requer teores de matéria seca mais elevados em torno de 800 g/kg de MS, o pré-secado requer valores inferiores, variando de 400 a 600 g/kg de MS (Edvan et al., 2023), também passível de reduzir a proliferação de microrganismos indesejáveis, com alto teor de carboidratos de fácil digestão, melhor concentração de gases e maior quantidade de ácidos graxos voláteis, contribuindo para uma melhor estabilidade aeróbica do pré-secado (Edvan et al., 2023).

Van Soest (1994´-q8) destaca que valores próximos a 60% de FDN são limitantes na qualidade da forragem e no consumo voluntário pelos animais, já que existe um aumento nos constituintes da parede celular, tornando a forragem potencialmente menos palatável. Assim, quanto menor o teor de FDN maior o consumo e digestibilidade pelos animais (Junior et al., 2006). O que é positivo, pois à medida que o FDA aumenta a digestibilidade da forragem diminui (Van Soest, 1994).

Os baixos valores de CHOsol encontrados no presente trabalho podem estar atrelados a ação dos microrganismos que convertem os açúcares em ácidos orgânicos e CO_2, produzindo os produtos de fermentação (Silva et al., 2017). Diferente do resultado encontrado por Edvan (2023) mostrando valores superiores (45,4 g/kg de MS).

Segundo Balsalobre et al. (2003), a variação na qualidade dessa fração pode interferir diretamente na disponibilidade de energia para o ruminante, ou seja, o avanço da idade da planta causa aumento nos constituintes da parede celular e consequentemente o aumento nos valores de CHOT. Isso reforça a necessidade da prática de conservação do excedente de produção dessas forrageiras tropicais, lançando mão da técnica de pré-secagem, buscando a manter a qualidade do material a mais próxima da forma *in natura*, através da minimização de perdas no processo e aumento da disponibilidade de nutrientes através da facilitação do acesso da microbiota ruminal aos constituintes nutricionais.

Pereira et al. (2006) encontrou valores de CHOT em pré-secado de capim-tifton 85 de 857,1 g/kg MS, semelhante aos encontrados na presente pesquisa no capim-Marandu (851,5 g/

kg MS). Os resultados desta pesquisa para CHOT corroboram com os relatados por Van Soest (1994), constituindo 50 a 80% da matéria seca das plantas forrageiras.

Via de regra, alimentos conservados que apresentam valores inferiores a 12% de nitrogênio amoniacal apresentam uma fermentação eficiente para a conservação do material (McDonald et al., 1991). Para todas as forrageiras tropicais pré-secadas na presente pesquisa, as médias de N-NH_3 estavam abaixo do valor máximo considerado ideal com média de 0,60%, o que pode indicar a redução da degradação de aminoácidos e consequentemente a redução da atividade de bactérias do gênero *Clostridium*.O nitrogênio amoniacal (N-NH_3) também pode ser influenciado pelos teores de proteína bruta presente nas forragens, e também na quantidade de nitrogênio durante a fermentação (Pires et al., 2013).

A presença da fermentação lática em pré-secado de gramíneas tropicais é comum, pois o envelopamento a qual o material pré-secado é submetido permite uma fermentação anaeróbica, aonde os microorganismos fermentam os carboidratos em ácido láctico (Henning e Lawrence, 2019). Os valores de ácido lático observados foram superiores aos encontrados por Arriola et al. (2015), que verificou teores de 10,4 g/kg de MS em pré-secado de capim-tifton 85, e de Galeano et al. (2022) com valores de 22,2 g kg de MS em pré-secado de capim-tamani. Portanto, os valores do presente estudo caracterizam uma boa fermentação láctica. Quanto à fermentação acética, a sua presença no material enfardado é importante, pois ela tem efeito inibitório no crescimento de leveduras, influenciando positivamente na estabilidade aeróbia (Ranjit e Kung Jr, 2000). Porém, valores altos como os encontrados nos pré-secados dos capins Andrapogon, Mombaça e Massai, é um indicativo de alterações indesejáveis durante a fermentação, e isso pode ser explicado devido à presença de enterobactérias e até mesmo bactérias do gênero *Clostridium*, resultando na diminuição do consumo da forragem conservada. A produção deste ácido pode resultar também na perda por CO_2 e reduzir a recuperação de matéria seca (Muck, 2010). Para uma boa fermentação Tomich et al. (2003) destaca que os valores de ácido acético devem ser inferiores a 2,5% da MS.

Em contrapartida, o ácido propiônico presente é benéfico, pois age como um importante inibidor do crescimento de leveduras (Filya et al., 2004). Conforme Thomas (1976), médias de ácidos propiônico entre 0,1 a 14,20 g/kg de MS são considerados satisfatórios em material com 500 a 600 g/kg de MS.

A alta concentração de ácido butírico presente no pré-secado indica a atuação de bactérias o que resulta na grande quantidade de perda de matéria seca. Rodrigues et al. (2005)

quando trabalhou com silagens de capins tropicais observou valores de ácido butírico de 0,001% da MS, com a obtenção de silagem de excelente qualidade.

Ocorreu diferença significativa na temperatura interna entre os pré-secados das diferentes cultivares (Tabela 5). Contudo, as variações na temperatura interna e superficial não foram superiores à temperatura ambiente (25ºC), mostrando a estabilidade do material pré-secado quando exposto ao ar, no entanto, isso não é um indicativo que o pré-secado teve uma fermentação ruim, mas que o material conservado passou por uma instabilidade quando exposto ao ar (Castro et al., 2006).

Fato esse que pode estar condicionado à deterioração aeróbica, a qual se caracteriza pela intensa produção de fungo. As leveduras *Candida krusei*, *Pichia fermentans* e *Hansenula anomala*, exibem uma notável capacidade de resistir a variações de pH e são capazes de sobreviver em ambientes anaeróbios. Essas leveduras desempenham um papel crucial como iniciadoras do processo de deterioração da silagem. Ainda, cita-se a participação de bactérias, incluindo *B. cereus, B. firmes, B. lentus* e *B. sphaericus* no processo de deterioração. Essas bactérias podem desencadear etapas adicionais de degradação e, por conseguinte, perdas do material ensilado na abertura (Pereira, 2001).

De acordo com Taylor e Kung Jr (2002) a quebra da estabilidade aeróbica ocorre quando o material após a exposição ao ar aumenta 2 °C em relação a temperatura ambiente. Apesar da variação de temperatura interna do pré-secado do capim-Mombaça e capim-Massai (Tabela 5), não foi o suficiente para superar a temperatura ambiente em 2 °C. O aumento da temperatura na massa ensilada pode ser atribuído a diversos fatores, dentre eles as reações exotérmicas que ocorrem na massa ensilada quando na presença de oxigênio, como a respiração e multiplicação de microrganismos deletérios à qualidade da silagem (Araújo et al., 2020). Consequentemente, o aumento da temperatura durante a estabilidade aeróbica está associado ao conteúdo de MS da silagem, considerando que a medida que aumenta a concentração de matéria seca tende a ser maior a temperatura, pois há necessidade de produzir mais calor para alterar a temperatura de silagens com menores teores de matéria seca (McDonald et al., 1991., Wilkinson e Davies, 2012).

A estabilidade aeróbica do pré-secado, independente do tratamento com a enzima, foi mantida provavelmente pela concentração de ácido acético e a baixa quantidade de CHOsol (Edvan et al., 2023) em todas as forrageiras pré-secadas.

O crescimento de mofos e leveduras durante a estabilidade foi expressivo, porém inferior aos constatados por Taylor et al. (2002), que observaram crescimento de 8,17 log UFC

g^{-1} em pré-secado de alfafa e estabilidade aeróbia de 124 horas. McDonald et al. (1991), afirma que silagens com contagem superior a 105 UFC g^{-1} de leveduras possuem tendência a deteriorar-se quando expostas ao ar, porém isso não pode ser considerado como um fator decisivo uma vez que silagens com menores populações de leveduras também podem deteriorar rapidamente (Henderson, 1993).

Normalmente fungos são inibidos em ambiente anaeróbico sob acidez promovida por bactérias lácticas, no entanto, o pH elevado e a possível presença do O_2 proporcionou o crescimento de mofos e leveduras durante o armazenamento em todos os fardos de pré-secados.

Vale salientar que, o amplo crescimento de mofos nos pré-secados das diferentes gramíneas tenderam a uma deterioração do material. No entanto, não ocorreu a quebra da estabilidade aeróbica. O processo de deterioração envolve a metabolização do ácido lático e dos carboidratos residuais por microrganismos presentes no material conservado o que resulta em aumento do pH, aumento de temperatura e no crescimento de microrganismos aeróbicos (Woolford et al., 1982).

Sendo assim, provável que houve ação da enzima sobre o material pré-secado, confirmando que o pré-secado não tratado com aditivo apresenta elevado número de leveduras e bactérias aeróbias (Särkijärvi et al., 2012).

Durante a fermentação ocorre uma competição entre os microrganismos para utilizar os carboidratos e no final obter produtos da fermentação. É nessa fase que ocorre o crescimento de microrganismos indesejáveis, como as enterobactérias, clostrídios e fungos, ocasionando perdas na qualidade do material (Ridwan et al., 2015).

5. CONCLUSÕES

A dose utilizada da enzima xilanase não promoveu alterações na composição química, nos parâmetros de fermentação ruminal *in vitro*, na estabilidade aeróbica e na microbiologia do pré-secado. Por outro lado, foi verificado a influencia da cultivar nesses parâmetros. Assim, torna-se necessário a realização de mais estudos buscando identificar a dose ideal de xilanase a ser adicionada em pré-secado de gramíneas tropicais, com vistas à melhoria da qualidade do alimento para ruminantes.

REFERÊNCIAS

Amorim, D.S., Carneiro, M.S.S., Nascimento, R.R., Silva, A.L. 2017. Pré-secado: uma alternativa para aumentar a segurança alimentar dos rebanhos no período de escassez de forragem. Revista Electrónica de Veterinária, 18(1), 11-13.

Araújo, C.A., Santos, A.P.M., Monteiro, C.C.F., Lima, D.O., Torres, A.M., Santos, C.V.S., Monteiro, S.E.S., Silva, J.J. 2020. Efeito do tempo de ensilagem sobre a composição química perfil fermentativo e estabilidade aeróbia de silagens de milho (*Zea mays*). Diversitas Journal, 5(1), 547-61.

Arriola, K.G., Queiroz, O.C.M., Romero, J.J., Casper, D., Muniz, E., Hamie, J., Adesogan, A.T. 2015. Effect of microbial inoculants on the quality and aerobic stability of bermudagrass round-bale haylage. Journal of Dairy Science, 98(1), 478-485.

Association of Official Analytical Chemists - AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Arlington: AOAC International, 1117 p.

Balsalobre, M.A.A., Corsi, M., Santos, P.M., Penati, M.A., Demétrio, C.G.B. 2003. Cinética da degradação ruminal do capim tanzânia irrigado sob três niveis de residuo pós-pastejo. Revista Brasileira de Zootecnia, 6, 1747-1762.

Bolsen, K.K., LIN, C., Brent, C.R., Feyerherm, A.M., Urban, J.E., Aimutis, W.R. 1992. Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of Alfafa and corn silages. Journal of Dairy Science. 75, 3066-3083.

Castro, F.G.F., Nussio, L.G., Haddad, C.M., Campos, F.P., Coelho, R.M., Mari, L.J., Toledo, P.A. 2006. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. Revista Brasileira de Zootecnia, 35(2), 358-371.

Corsato, C.E., Scarpare filho, J.A., Sales, E.C.J. 2008. Teores de carboidratos em órgãos lenhosos do caquizeiro em clima tropical. Revista Brasileira de Fruticultura, 30(2), 414-418.

Cremilleux, M., Coppa, M., Bouchon, M., Delaby, L., Beaure, G., Constant, I., Natalello, A., Martin, B., Michaud, A. 2022. Effects of forage quantity and access-time restriction on feeding behaviour, feed efficiency, nutritional status, and dairy performance of dairy cows fed indoors. Animal, 16(9), e 100608.

COSTA, N. de L. 2001. Manejo de pastagens de Brachiaria brizantha cv. Marandu em Rondônia. Porto Velho: Embrapa Rondônia. 3 p. (Recomendações técnicas, 33).

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smitch, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Biochemistry, 28(3), 350-356.

Edvan, R.L., Santos, F.L.D., Nascimento, R.R.D., Barros, D.M.A., Santos, E.M., Azevedo, F.L. D., Barros, L.D.S., Nascimento, K.D.S., Dias-Silva, T.P., Araujo, M.J. 2023. Quality of Tanzania grass (*Panicum maximum*) haylage in relation to plant dry matter content. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, 55(1), 38-52.

Ferreira, F.S., Neto, F.D.M., Pereira, R.L.M., Melo, F.H.A., Oliveira, G.L., Neto, N.T.J. 2013. Fatores que afetam o consumo alimentar de bovinos. Arquivos de Pesquisa Animal, 2(1), 9 – 19.

Filya, I., SUCU, E., Karabulut, A. 2004. The effect of Propionibacterium acidipropionici, with or without Lactobacillus plantarum, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum and maize silages. Journal of Applied Microbiology, 97, 818-826.

Galeano, E.S.J., Fernandes, T., Junior, M.A.P.O., Alves, J.P., Retore, M., ORRICO, A.C.A., Machado, L.A.Z., Vicente, E.F., Cecon, G. 2022. Tamani grass-legume intercropping can improve productivity and composition of fodder destined to haylage or hay. Ciência Rural, 52(9), e20210482.

González, G., Rodríguez, A. A. 2003. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. Journal of Dairy Science, 86(3), 926–933.

Gurgel, A.L.C., Difante, G.S., Emerenciano Neto, J.V., Souza, J.S., Veras, E.L.L., Costa, A.B. G., Roberto, F.F.S. 2017. Estrutura do pasto e desempenho de ovinos em capim-Massai na época seca em resposta ao manejo do período das águas. Boletim de Indústria Animal, 74(2), 86-95.

Henderson, N. 1993. Silages additives. Animal Feed Science and Technology, 45, 35-56.

Henning, J., Lawrence, L. 2019. Production and Management of Hay and Haylage. In: SHARPE, P. (ED.). Horse Pasture Management. Academic Press, 177-208.

Junior, M.L.G., Pérez, J.R.O., Almeida, T.R.V., Paula, O.J., França, P.M., Assis, R.M. 2006. Influência de diferentes níveis de fdn dietético no consumo e digestibilidade aparente de ovelhas Santa Inês. Ciência e Agrotecnologia, 30(3), 547–553.

Köppen, W., Geiger, R. 1936. Geographisca System der Klimate. In: Handbuch der Klimatologie. Gerbrüder Bornträger, 1, 1–44.

Kung Jr, L., Shaver, R.D., Grant, R.J., Schmidt, R.J. 2018 .Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. Journal of Dairy Science, 101(5), 4020-4033.

Kung Jr, L., Shaver, R.D. 2001. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. Focus on forage, 3(13), 1-5.

McDonald, P., Henderson, N., Heron, S. 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd ed. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, UK.

Muck, R.E. Silage microbiology and its control through additives. 2010. Revista Brasileira de Zootecnia, 39, 183-191.

Muck, R.E., Kung Jr., L. 1997. Effects of silages additives on ensiling. In: the silage: field to feed bunk north american conference. National Regional Agricultural Engineering Service, 187-199.

Nimer, E. 1979. Climatologia da Região Nordeste. In: Climatologia do Brasil. Rio de janeiro: IBGE.

Oliveira, V.S., Morais, J.A.S., Fagundes, J.L., Lima, S.G.I., Santana, S.C.J., Santos, D.B.C. 2016. Efeito da irrigação na produção e qualidade de pastagens durante o período da seca. Revista cientifica eletrônica de medicina veterinária, 26, 1-10.

Pereira, J.R.A., Reis, R.A. 2001. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, 1, 64-86.

Pires, D.A.A., Rocha Júnior, V.R., Sales, E.C.J., Reis, S.T., Jayme, D.G., Cruz, S.S., Esteves, B.L.C. 2013. Características das silagens de cinco genótipos de sorgo cultivados no inverno. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, 12, 68-77.

Ranjit, N.K., Kung Junior, L. 2000. The effect of Lactobacillus buchneri, Lactobacillus plantarum, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, 83, 526–535.

Ridwan, R., Rusmana, I., Widyastuti, Y., Wiryawan, K.G., Prasetya, B., Sakamoto, M., Ohkuma, M. 2015. Fermentation characteristics and microbial diversity of tropical grass-legumes silages. Asian-Australasian journal of animal sciences, 28(4), 511– 518.

Rodrigues, P.H.M., Borgatti, L.M.O., Gomes, R.W., Passini, R., Meyer, P.M. 2005. Efeito da adição de níveis crescentes de polpa cítrica sobre a qualidade fermentativa e o valor nutritivo da silagem de capim-elefante. Revista Brasileira de Zootecnia, 34(4), 1138-1145.

Roecker, A.N., Silva, L.A.L., Amaro, M.R., Pope, A.M., Faria, A.C., Tardin, F.D., Behling Neto, A., Pereira, D.H. 2019. Avaliação de metodologias de mensuração de teor de

nitrogênio amoniacal da silagem de milho, sorgo granífero, sorgo forrageiro e sorgo biomassa In: simpósio mato-grossense de bovinocultura de corte, 5.

Santos, E.M., Parente, H.N., Oliveira, J.S., Parente, M.O.M. 2019. Ensilagem no nordeste do Brasil. EDUFMA, São Luís MA. 96-106.

Särkijärvi, S., Seppälä, A., Perälä, J., Heikkilä, T., Nysand, M., e Mäki, M. 2012. Preference of horses for haylage ensiled with propionic acid based additive. In K. Kuoppala, M.Rinne and A. Vanhatalo, Eds. MTT Agrifood Research Finland and University of Helsinki, XIV International Silage Conference, Hämeenlinna, 2(4), 516-517.

Silva, T.C., Silva, L.D., Santos, E.M., Oliveira, J.S., Perazzo, A.F. 2017. Importance of the fermentation to produce high-quality silage. In: JOZALA, E.A (ED), Fermentation Processes. InTech, 1–21.

Sniffen, C.J., O'connor, J.D., Van SOEST, P.J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. carbohydrate and protein availability. Journal of Animal Science, 70, 3562-3577.

Souza, G.A., Nogueira, A.R.A., Rassin, J.B. 2002. Determinação de matéria seca e umidade em solos e plantas com forno de micro-ondas doméstico. EMBRAPA, Circular Técnica. 33, 8.

Taylor, C.C., Kung Jr., L. 2002. The effect of Lactobacillus buchnneri 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. Journal of Dairy Science, 85, 1526-1532.

Taylor, C.C., Ranjit, N.J., Mills, J.A., Neylon, J.M., Kung jr., L. 2002. The effect of treating whole-plant barley with Lactobacillus buchneri 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. Journal of Dairy Science, 85(7), 1793-1800.

Thomas, J.W. 1976. Organic acids for haylage in snow-fence silos. Journal of Dairy Science, 59(6), 1104-1109.

Tomich, T.R., Pereira, L.G.R., Gonçalves, L.C., Tomich, R.G.P., Borges, I. 2003. Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação. p.20.

Van Soest, P.J. 1994. Nutrition ecology of ruminants. Ithaca. Cornell University Press, 476 p.

Van Soest, Peter. J. 1965. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: Voluntary intake relation to chemical composition and digestibility. Journal Animal Science, 24(3), 834-844.

Weirich, D.T., Neres, M.A., Hunoff, C.A., Ströher, S.M., Nath, C.D., Sunahara, S.M.M., Sarto, J.R., Oldoni, T. 2018. Microbiological profile and aerobic stability of Tifton 85 bermudagrass silage with or without vacuum and microbial inoculants. Bioscience Journal, 34(1), 151–161.

Wilkinson, J.M., Davies, D.R. 2012. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. Grass and Forage Science, 68(1), 1-19.

Woolford, M. K., Bolsen, K. K., Peart, L.A. 1982. Studies on the aerobic deterioration of whole-crop cereal silages. Journal Agriculture Science, 98, 529- 535.

Zago, D., Queiroz Filho, L.A.V., Sartori, E.D., Barcellos, J. Reserva de forragem: feno ou silagem? ag - A revista do criador, Edição 224, março de 2019, editora Centaurus. Disponível em: https://edcentaurus.com.br/ag/edicao/224/materia/9793 Acesso em 10 nov 2023.

CAPÍTULO III

Enzima fibrolítica em dietas a base de pré-secado de gramíneas tropicais: degradabilidade *in vitro* e produção de gases

ENZIMA FIBROLÍTICA EM DIETAS A BASE DE PRÉ-SECADO DE GRAMÍNEAS TROPICAIS:DEGRADABILIDADE *IN VITRO* E PRODUÇÃO DE GASES

RESUMO

Entre os fatores que contribuem para o aumento da produção de metano (CH_4) entérico por ruminantes, destacam-se as dietas de baixa digestibilidade. O objetivo foi avaliar o efeito da adição de enzima fibrolítica em gramíneas tropicais pré-secadas na ração total misturada (RTM) sobre a degradabilidade *in vitro*, a cinética da degradação ruminal e a produção de CH_4. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 × 2 com quatro cultivares de gramíneas pré-secadas (*Andrapogon gayanus* cv. Planaltina; *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) com e sem adição da enzima xilanase. O teor de MS da RTM foi influenciado (P <,0001) pela interação cultivar × enzima, com superioridade para a dieta composta com concentrado + pré-secado de capim-mombaça. O teor de proteína bruta diferiu (P <,0001) entre dietas, com maior e menor valor para a RTM à base de capim-Andrapogon e capim-massai. A RTM com volumoso de capim-andrapogon pré-secado com xilanase apresentou maior conteúdo de fibra. A fibra em detergente ácido foi afetada pelo RTM, com maior proporção nas dietas com pré-secado de Andrapogon e Mombaça. No entanto, verificamos que o uso da enzima xilanase tendeu reduzir a produção de CH_4 (P = 0,0797) e a eficiência de CH_4 (P = 0,0701), independentemente da gramínea utilizada na dieta. O total de ácidos graxos de cadeia curta, as concentrações acetato, propionato e butirato foram influenciadas (P < 0,05) pela composição da dieta. As dietas com as cultivares Massai e Mombaça pré-secadas sem adição de enzima xilanase produziram o maior e o menor volume de gás a partir da degradação dos carboidratos fibrosos, respectivamente. O uso da enzima xilanase no pré-secado não afetou (P > 0,05) os parâmetros da degradação das dietas. A dose utilizada da enzima xilanase não alterou a degradabilidade da RTM. Contudo, tendeu a mitigar a produção de CH_4 por kg de matéria orgânica degradada.

Palavras-chave: Degradabilidade da fibra. Fermentação. Metano entérico. Produção de gás. Ruminantes. Xilanase.

FIBROLYTIC ENZYME IN HAYLAGE-BASED DIETS OF TROPICAL GRASSES: *IN VITRO* DEGRADABILITY AND GAS PRODUCTION

ABSTRACT

Among the factors that contribute to the increase in enteric methane (CH4) production by ruminants, low digestibility diets stand out. The objective was to evaluate the effect of adding fibrolytic enzyme to tropical grasses haylage in the total mixed ration (TMR) on *in vitro* degradability, ruminal degradation kinetics and CH_4 production. A completely randomized design was used, in a 4 × 2 factorial scheme with four cultivars of pre-dried grasses (*Andrapogon gayanus* cv. Planaltina; *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai and *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) with and without addition of xylanase enzyme. The DM content of TMR was influenced (P <.0001) by the cultivar × enzyme interaction, with superiority for the diet composed of concentrate + pre-dried Mombaça grass. The crude protein content differed (P <.0001) between diets, with higher and lower values for the TMR based on Andrapogon grass and Massai grass. The TMR with pre-dried Andrapogon grass roughage with xylanase showed higher fiber content. The acid detergent fiber fraction was affected by TMR, with a higher proportion in diets with pre-dried Andrapogon and Mombaça. However, we found that the use of the xylanase enzyme tended to reduce CH_4 production (P = 0.0797) and CH_4 efficiency (P = 0.0701), regardless of the grass used in the diet. Total short-chain fatty acids, acetate, propionate and butyrate concentrations were influenced (P < 0.05) by diet composition. Diets with haylage from Massai and Mombaça cultivars without addition of xylanase enzyme produced the highest and lowest volume of gas from the degradation of fibrous carbohydrates, respectively. The use of the xylanase enzyme in the pre-drying process did not affect (P > 0.05) the degradation parameters of the diets. The dose of xylanase enzyme used did not alter the degradability of TMR. However, it tended to mitigate CH_4 production per kg of degraded organic matter.

Keywords: Fiber degradability. Fermentation. Enteric methane. Gas production. Ruminants. Xylanase.

1. INTRODUÇÃO

Regiões tropicais apresentam, ao longo do ano, uma significativa irregularidade na precipitação pluviométrica, afetando tanto a qualidade quanto a quantidade de alimento. Em consequência desse fator intrínseco, no período das águas os animais têm à sua disposição uma maior oferta de alimento de melhor qualidade. Por outro lado, no período seco do ano as gramíneas exibem baixa produção e qualidade nutricional reduzida (Ku-Vera et al., 2020). Essas características afetam o desempenho animal e a eficiência do sistema de produção (Cheng et al., 2022).

Outra grande preocupação relacionada ao período seco do ano é o baixo aproveitamento dos nutrientes presentes nas forragens, em consequência da alta participação de carboidratos fibrosos de difícil degradação (Meale et al., 2014; Franco et al., 2021). A parede celular vegetal apresenta um grande desafio no processo de degradação no ambiente ruminal, sendo composta por celulose, hemicelulose, lignina, pectina, proteínas, minerais e açúcares solúveis, variando dependendo do tipo de planta e estado fenológico (Jørgensen et al., 2007). Em dietas com alto teor de fibras a produção de CH_4 entérico tende a aumentar (Ruviaro et al., 2015). Microrganismos como arqueas metanogênicas (bactérias ruminais quimiotróficas) utilizam o dióxido de carbono (CO_2) e o hidrogênio (H_2), produzidos após o processo de fermentação, para formação do CH_4 (Patra et al., 2017). O CH_4 liberado representa uma perda energética (3 - 17 % de acordo com Beauchemin et al. (2020) para o animal, reduzindo sua eficiência alimentar, além de ser considerado um gás de efeito estufa (GEE), com poder de retenção de calor 25 vezes maior que o CO_2 (IPCC, 2007), sendo responsável por aproximadamente 5% das emissões antropogênicas globais de GEE (Shukla et al., 2022).

Dessa forma, o planejamento da produção e uso do alimento de melhor qualidade na época de estiagem passa quase que inevitavelmente pela conservação dos recursos forrageiros (Balehegn et al., 2022). As técnicas de conservação em forma de silagem e feno são bem estabelecidas ao redor do mundo e promovem resultados produtivos satisfatórios. Além do feno e da silagem, o pré-secado ou *"haylage"* tem sido utilizado para o aproveitamento e conservação do excedente da produção forrageira do período chuvoso, visando garantir a oferta de alimento de qualidade ao longo do ano.

Diversos são os fatores interferentes na produção de CH_4 entérico (Abdalla et al., 2012; Cerri et al., 2016). Nesse contexto, dietas com baixa digestibilidade aumentam a quantidade de gases produzidos pela fermentação entérica; animais abatidos tardiamente permanecem maior tempo nas pastagens e, consequentemente, emitem maiores quantidades de GEE; sistemas de

produção menos eficientes e com baixo peso ao abate ocasionam aumento das emissões de GEE por kg de carne/leite produzidos (Gerber et al., 2013a). Assim, a produção de CH_4 entérico pode ser manipulada para que se consiga atingir menores emissões provenientes dos processos fermentativos ruminais (Beauchemin et al., 2008; Cottle et al., 2011; Gerber et al., 2013b; Hristov et al., 2013a, 2013b).

Muitos estudos *in vitro* mostraram a eficiência de enzimas fibrolíticas exógenas na degradação da fração fibrosa de diferentes substratos com consequente melhora na qualidade nutricional (Soltan et al., 2013; Tang et al., 2013; Adesogan et al., 2014; Meale et al., 2014; Romero et al., 2015; Díaz et al., 2015; Elghandour et al., 2016; Gado et al., 2017; Kholif et al., 2017; Hernández et al., 2017; Vallejo-Hernández et al., 2018; Sakita et al., 2020). Em posse dessas constatações, foi hipotetizado que a adição de enzima fibrolítica no processo de pré-secagem de gramíneas tropicais aumentaria o processo de degradação da fração fibrosa dos alimentos, disponibilizando maiores quantidades de nutrientes. Além disso, benefícios diretos como a redução na produção de CH_4 entérico e maior aproveitamento energético da dieta.

Diante desse cenário e considerando o crescente interesse no uso de pré-secados como método de conservação de alimentos durante períodos de escassez de forragem, juntamente com a falta de dados na literatura, objetivou-se avaliar o efeito da adição de enzima fibrolítica em gramíneas tropicais pré-secadas na ração total misturada (RTM) sobre a degradabilidade *in vitro*, a cinética da degradação ruminal e a produção de CH_4.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais da presente pesquisa que envolveram animais foram aprovados pelo comitê institucional para uso de animais em pesquisa do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da universidade de São Paulo (Protocolo 011/2016).

2.1. Local do experimento, gramíneas, pré-secagem e dietas experimentais

O experimento foi conduzido inicialmente na cidade de Bom Jesus, Piauí, Brasil, com avaliações posteriores no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da universidade de São Paulo. Quatro forrageiras tropicais (*Andrapogon gayanus* cv. Planaltina; *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) foram utilizadas para produção de pré-secado.

As gramíneas forrageiras utilizadas no experimento foram provenientes de uma área estabelecida em 2016, do campo agrostológico do *campus* Professora Cinobelina Elvas (CPCE) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), localizado na cidade de Bom Jesus, Piauí, Brasil. A

cidade está situada ao Sul do estado do Piauí, na microrregião do Alto-Médio Gurguéia, com latitude 09º04'28" sul e longitude 44º21'31" oeste, com altitude de 277 metros. A região de estudo possui classificação climática Aw, com chuvas de verão e inverno seco de acordo com a classificação Köppen de 1936, descrito por Medeiros et al. (2013) e Alvares et al. (2013), com chuvas de verão e período seco de aproximadamente de seis meses.

Os pastos foram irrigados com realização do corte de uniformização no início do experimento de acordo com a recomendação de manejo para cada espécie, sendo que a adubação foi de acordo com análise de solo e recomendação para espécies exigentes (Martha Jr et al., 2007). As espécies forrageiras foram cortadas no estádio fenológico antes da floração, de acordo com a recomendação de cada espécie (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química (g/kg de matéria seca) dos ingredientes *in natura* que compuseram a ração total misturada (RTM).

Variáveis	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Milho moído	Farelo de soja
Matéria seca (g/kg MN)	365,3	316,0	334,8	28,47	885,1	896,2
Proteína Bruta	79,3	63,0	76,1	69,8	121,6	418,5
Matéria mineral	42,0	63,8	55,4	57,5	20,7	67,5
Fibra em detergente neutro	758,4	779,5	794,8	703,3	13,42	14,78
Fibra em detergente ácido	363,6	419,7	422,6	352,5	54,1	282,1

O material foi colocado sobre lona plástica para desidratação até atingir o teor de umidade de 50% (Edvan et al., 2023). Durante o período de exposição ao sol a massa de forragem foi revolvida para uniformização da desidratação. Quando o material atingiu o nível de desidratação adequado foi recolhido para o enfardamento em enfardadeiras manuais. Antes do enfardamento, a enzima fibrolítica (xilanase) foi adicionada na dose de 1,8 g/Kg de MS, conforme indicação do fabricante. Assim, cada cultivar de gramínea foi submetida a dois tratamentos: sem e com a adição de enzima fibrolítica (Fibrozyme - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda., Maringá, Paraná, Brasil). O produto foi extraído dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum*. O produto foi composto de xilanase e de um surfactante (extrato de *Yucca echtigera*), veículo que tem a função de aumentar o contato das enzimas com o substrato.

Após 90 dias do envelopamento, os fardos foram abertos, as amostras foram colhidas para análises. Uma RTM foi preparada, com relação volumoso:concentrado de 60:40 para ser usada como substrato no processo de degradabilidade *in vitro* e ensaio de produção de gases. O concentrado foi composto por milho moído e farelo de soja na relação 70:30 (Tabela 1).

2.2. Análises químicas

Amostras das diferentes gramíneas pré-secadas utilizadas para determinação da composição química foram secas em estufa de circulação e renovação de ar, em temperatura máxima de 55ºC durante 72 h e moídas em moinho do tipo Wiley com peneira de 1 milímetro (Marconi, Piracicaba, SP, Brazil). Os teores de matéria seca (MS; método nº 934.01), cinzas (método nº 942.05), proteína bruta (PB; método nº 2001.11) extrato etério (EE; método nº 920.39) foram determinados de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2011); cinzas foram utilizadas para cálculo do teor de matéria orgânica (MO). Fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose e celulose foram determinadas de acordo com as metodologias descritas por Van Soest et al. (1991) e adaptadas por Mertens (2003). Para a estimativa dos carboidratos totais (CHOT) utilizou-se a equação proposta por Sniffen et al. (1992): TCHO = 100 - (%PB + % (extrato etério (EE) + %MM).

2.3. Produção de gás *in vitro*

A avaliação *in vitro* da produção de gases foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, em Piracicaba, São Paulo, Brasil.

A produção de gás *in vitro* e a degradabilidade foram determinados seguindo os procedimentos de Theodorou et al. (1994), utilizando um sistema semiautomático, conforme descrito por Mauricio et al. (1999) com adaptações descritas anteriormente por Abdalla et al. (2012). Resumidamente, amostras de substrato seco foram pesadas (isto é, 0,5 g) em sacos de filtro Ankom #F57 (Ankom F-57, Macedon, NY, EUA) e depois selados e incubados em frascos de soro de 160 mL (um por frasco) contendo 25 mL de líquido ruminal como inóculo e 50 mL de meio de incubação (Bueno et al., 2005).

Três ovinos (peso corporal = 60 ± 2,5 kg) machos, Santa Inês, canulados no rúmen foram utilizados como doadores de líquido ruminal. Os animais tiveram acesso *ad libitum* a suplementos minerais, água e feno de Tifton-85 (*Cynodon* spp.) com mistura concentrada (70% de milho moído e 30% de farelo de soja). O conteúdo ruminal de cada animal foi coletado antes da alimentação matinal e mantido a 39 ºC em condições anaeróbias até a realização da inoculação. Foram preparados dois inóculos por substrato, utilizando uma proporção sólido:líquido de 50:50 (Bueno et al., 2005). Para cada substrato foram incubados dois frascos (local 1 e local 2) (unidade experimental), e cada unidade experimental foi incubada em cada um dos três inóculos. Os frascos foram lacrados com rolhas de borracha e tampas de alumínio e incubados a 39 ºC por 24 horas em estufa de ventilação forçada. A pressão do gás (em psi)

foi medida usando um transdutor de pressão e um datalogger (Mauricio et al., 1999) às 3, 6, 12 e 24 horas após o fechamento das garrafas para estimar o gás total produzido (mL) usando a equação obtida com regressão linear (n = 500; R^2 = 0,99), conforme descrito por Soltan et al. (2013): V = 7,365 × psi, onde V é o volume do gás (mL) e psi é a pressão medida com o transdutor.

Após cada medição de pressão de gás, uma subamostra de gás (2,5 mL) foi coletada em tubos de vácuo de 10 mL para determinar a concentração de CH_4 usando um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC 2014, Chiyodaku, Tóquio, Japão) equipado com detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar HP-molesieve (CG 30 m × 0,53 mm × 25 µm). As condições do CG foram temperatura da coluna de 60 ºC, temperatura do injetor de 200 ºC, temperatura do detector de 240 ºC e gás de arraste (hélio) em fluxo constante a 10 mL/min. Uma curva de calibração foi preparada utilizando padrão de CH_4 99,5% puro (Praxair Industrial Gases, Osasco, Brasil).

A estimativa da produção de CH_4 foi calculada de acordo com Longo et al. (2006): CH_4 (mL/g de MS) = (VGP + ES) * % CH_4, onde VGP é o volume de gás produzido (mL); ES é o espaço superior do frasco (85 mL); % CH_4 é a porcentagem de CH_4 na subamostra; e CH_4 é a concentração de CH_4 (mL/g de MS).

A eficiência do CH_4 (%) foi calculada como (CH_4/VGP) × 100 e expressa a porcentagem de CH_4 em cada mL de gás produzido.

2.4. Parâmetros de degradabilidade da matéria orgânica e fermentação ruminal

Após 24 horas, os sacos foram retirados das garrafas e imediatamente imersos em água fria (- 4 ºC) para inibir a continuação da fermentação. O período de 24 horas foi selecionado com base em pesquisas anteriores, que demonstraram que um patamar nos resultados pode ser alcançado dentro deste período se o tamanho da partícula do substrato for de aproximadamente 1 mm (Yáñez-Ruiz et al., 2016) Todas as bolsas foram tratadas com solução de detergente neutro por uma hora a 90 ºC e depois lavadas com água quente e acetona em sequência. Os sacos foram colocados em forno mufla a 550 ºC por 4 h, e as cinzas foram pesadas e utilizadas para determinação da matéria orgânica verdadeiramente degradada (MOVD).

A eficiência microbiana foi estimada calculando o fator de partição (FP) usando a razão entre MOVD (em mg) e produção total de gás (em mL) em um período de incubação de 24 horas (Blümmel et al., 1997) Após o término da fermentação in vitro, uma sub-amostra de 2 mL do fluido de fermentação foi coletada de cada garrafa para determinar a concentração de

ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), utilizando a metodologia de Palmquist e Conrad (1971), com cromatografia gasosa (CG 2014 Shimadzu, Tóquio, Japão) equipada com FID e com a coluna PG 10% SP-1200/1 H_3PO_4 80/100 Chromosorc WAW (ct. nº 11965, aço inoxidável 60 × 1/800, SUpelco, Bellefonte, PA, EUA) conforme descrito por Lima et al. (2017).

Para estimar os parâmetros cinéticos de produção de gás, foi utilizado o modelo logístico bi-compartimental proposto por Schofield et al. (1994):

$$Y = A/(1+exp^{(2-4*B*(Lag-t))}) + D/(1+exp^{(2-4*E*(Lag-t))})$$

Onde Y é a produção cumulativa de gás no tempo t (mL/g MS); A é o volume de gás produzido pela degradação de carboidratos não fibrosos (CNF) e compostos solúveis; D é o volume de gás produzido pela degradação de carboidratos fibrosos (CF); B é a taxa de degradação dos CNF e compostos solúveis; E é a taxa de degradação dos CF; e Lag é o tempo (h) que a bactéria leva para colonizar a partícula. Os parâmetros do modelo foram estimados pelo método de Gauss Newton modificado, pelo procedimento NLIN (v. 9.4, SAS Inc., Cary, NC, USA). O número máximo de iterações utilizadas foi 100.

2.5. Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos a análise de variância por meio do procedimento GLM do SAS (v. 9.4, SAS Inc., Cary, NC, USA), considerando um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, em esquema fatorial 4 × 2. O primeiro fator correspondeu a quatro cultivares de gramíneas pré-secadas: *Andrapogon gayanus* cv. Planaltina; *Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu; o segundo fator com e sem xilanase. Quando significativos pelo teste F, os efeitos das fontes de variação e suas interações foram analisados pelo teste de Tukey, considerando significativo quando $P < 0,05$ e tendência quando $P > 0,05$ e $< 0,1$.

3. RESULTADOS

O teor de MS da RTM foi influenciado (P <,0001) pela interação cultivar × enzima, com superioridade para a ração composta com concentrado + pré-secado de capim-mombaça (Tabela 2). Os dados mostram que o teor de PB diferiu (P <,0001) entre dietas, com maior e menor valor para a RTM à base de capim-Andrapogon e capim-massai, respectivamente.

Tabela 2. Composição química (g/kg de matéria seca) da ração total misturada (RTM) à base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica.

Variáveis	Ração total misturada				Enzima		Valor de P		
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Com	Sem	RTM	Enzima	RTM × E
MS	656,0b	675,4a	652,7b	614,0c	674,3a	624,7b	<,0001	<,0001	<,0001
PB	140,6a	129,7bc	123,4c	133,0ab	132,1	131,3	<,0001	0,7217	0,0526
EE	3,49b	2,93d	4,68a	3,28c	3,98a	3,21b	<,0001	<,0001	<,0001
FDN	676,7a	505,6b	535,9b	482,6b	574,0a	526,4b	0,0006	0,0462	0,0023
FDA	247,0ab	275,6a	232,5b	219,6b	250,9	236,5	0,0103	0,1403	0,9745
MM	52,2b	65,5a	56,3b	55,8b	59,6a	55,3b	<,0001	0,0021	0,0082
CHOT	639,7a	580,1ab	610,6ab	616,7ab	593,7b	629,9a	0,0246	0,0087	0,0017

Médias com diferentes letras nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; MS (g/kg da MN) - Matéria seca; MN - Matéria natural; PB - Proteína bruta; EE - Extrato etéreo; FDN - Fibra em detergente neutro; FDA - Fibra em detergente ácido; MM - Matéria mineral; CHOT - Carboidratos totais; RTM × E - interação entre ração total misturada e enzima; E – Enzima.

Foi verificado também, interação cultivar × enzima para FDN (P = 0,0023) e MM (P = 0,0082). A RTM à base de pré-secado de capim-Andrapogon com xilanase apresentou maior conteúdo de fibra. A Fração FDA foi afetada pelo RTM, com maior proporção nas dietas com pré-secado de Andrapogon e Mombaça. A concentração de minerais foi superior na RTM à base de capim-Mombaça com xilanase. Os CHOT diferiram em função da interação RTM x enzima, com menor concentração na dieta com capim-Mombaça conservada em forma de pré-secado sem enzima.

A presente pesquisa mostrou não haver efeito (P > 0,05) da interação entre RTM e enzima sobre os parâmetros de produção de gases (Figura 1), CH_4 e degradabilidade *in vitro* (Tabela 3). Essas variáveis também não diferiram entre as diferentes RTM a base de forrageiras tropicais (P > 0,05). No entanto, verificamos que o uso da enzima xilanase tendeu reduzir a produção de CH_4 (P = 0,0797) e a eficiência de CH_4 (P = 0,0701) nas RTM à base de gramíneas tropicais conservadas em forma de pré-secado.

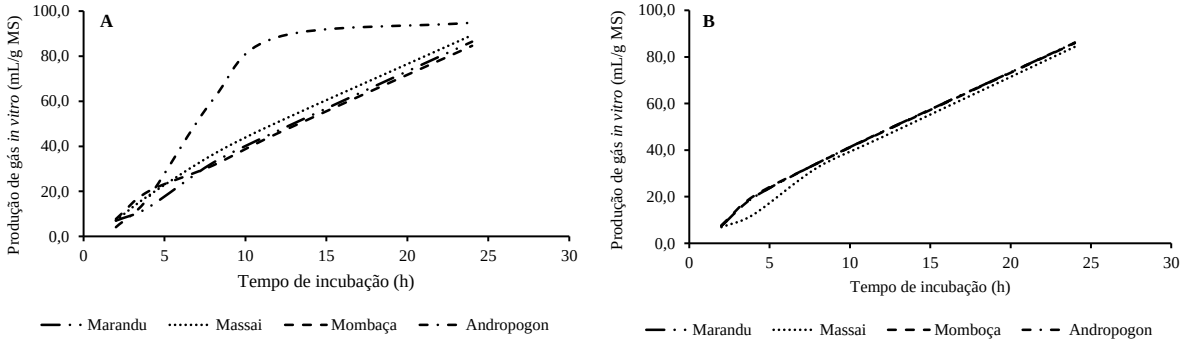


Figura 1. Cinética da produção de gases da ração total misturada (RTM) à base de gramíneas tropicais pré-secadas sem (A) e com (B) a adição de enzima fibrolítica.

A concentração total de AGCC foi influenciada (P < 0,0152) pela composição da dieta, sendo verificada uma maior quantidade desses ácidos na RTM com pré-secado de Andrapogon em comparação à RTM à base de capim-Mombaça (Tabela 4). A proporção de acetato foi superior (P <,0001) na RTM com capim-Andrapogon. Por outro lado, maior proporção de propionato (P < 0,0003) e butirato (P <,0001) foi observada na dieta com pré-secado de capim-Mombaça em comparação à dieta com Andrapogon, resultando na diferente (P <,0001) relação acetato/propionato entre esses substratos.

Verificamos a ocorrência de interação (P = 0,0281) entre cultivar e enzima sobre o volume de gás produzido a partir dos carboidratos fibrosos da RTM (Tabela 5). As RTM à base das cultivares Massai e Mombaça pré-secadas sem adição de enzima xilanase produziram o maior e o menor volume de gás a partir da degradação dos carboidratos fibrosos, respectivamente.

Tabela 3. Degradabilidade *in vitro*, produção total de gás e produção de metano em ração total misturada (RTM) à base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica.

Variáveis	Ração total misturada				Enzima		Valor de P		
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Com	Sem	RTM	Enzima	RTM × E
Degradabilidade da matéria orgânica (g/kg)	472,2	481,8	484,7	505,4	489,5	482,6	0,6477	0,7090	0,7131
Produção de gás (mL/g de MS)	79,9	87,6	79,5	80,5	79,1	84,6	0,3976	0,1630	0,9417
Produção de metano (mL/g de MOVD)	32,3	32,0	24,3	28,7	25,3	33,4	0,5439	0,0797	0,8984
Eficiência de metano (%)	38,9	35,8	29,3	34,6	30,4	38,9	0,4950	0,0701	0,8055
Fator de partição	5,3	4,8	5,3	5,5	5,5	5,0	0,4788	0,1133	0,9691

Valor de P < 0,05 indica diferença significativa nas linhas; valor de P > 0,05 e < 0,1 indica tendência a diferir significativamente pelo teste Tukey; MS – Matéria seca; MOVD - Matéria orgânica verdadeiramente degradada; DMO - degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (g/kg); RTM × E - interação entre ração total misturada e enzima; E – Enzima.

Tabela 4. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (mol/100 mol) da ração total misturada (RTM) à base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica.

Variáveis	Ração total misturada				Enzima		Valor de P		
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Com	Sem	RTM	Enzima	RTM × E
Total de AGCC (Milimolar)	148,3a	129,4b	132,2ab	141,7ab	134,8	141,1	0,0152	0,1770	0,8942
Acetato	58,3a	51,5c	53,6bc	55,2ab	54,5	54,8	<,0001	0,7075	0,6733
Propionato	22,9b	28,5a	26,7a	26,4a	26,3	25,9	0,0003	0,6366	0,8803
Butirato	13,1b	14,3a	13,9a	12,9b	13,6	13,5	<,0001	0,7895	0,3734
Isobutirato	0,9	1,0	0,9	0,9	0,9	1,0	0,8870	0,5559	0,6670
Isovalerato	3,2	3,1	3,0	3,2	3,1	3,2	0,7020	0,6392	0,3981
Valerato	1,3	1,3	1,3	1,4	1,3	1,3	0,2453	0,8938	0,1585
Acetato/propionato	2,7a	1,8b	2,0b	2,1b	2,1	2,2	<,0001	0,5613	0,8858

Médias com diferentes letras nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; AGCC – ácidos graxos de cadeia curta; RTM × E - interação entre ração total misturada e enzima; E – Enzima.

Tabela 5. Cinética da degradação ruminal da ração total misturada (RTM) à base de gramíneas tropicais pré-secadas com a adição de enzima fibrolítica.

Variáveis	Ração total misturada				Enzima		Valor de P		
	Andrapogon	Mombaça	Massai	Marandu	Com	Sem	RTM	Enzima	RTM × E
A	81,19	83,14	81,60	83,13	82,45	82,08	0,6295	0,7837	0,9262
B	0,09	0,04	0,04	0,05	0,04	0,07	0,5380	0,3618	0,5283
Lag	3,64ab	3,47b	3,86ab	3,93a	3,74	3,71	0,0461	0,8236	0,8642
D	14,74	12,74	13,34	15,41	14,30	13,81	0,0370	0,4745	0,0281
E	1,44b	1,48b	2,70a	1,86ab	1,91	1,83	0,0069	0,7403	0,0516
Y	95,93	95,88	94,94	98,54	96,75	95,89	0,8142	0,4663	0,4711

Médias com diferentes letras nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; Y - produção cumulativa de gás no tempo t (mL/g MS); A - volume de gás produzido pela degradação de carboidratos não fibrosos (CNF) e compostos solúveis; D - volume de gás produzido pela degradação de carboidratos fibrosos (CF); B - taxa de degradação de NFC e compostos solúveis; E - taxa de degradação de CF; Lag - tempo (h) que a bactéria leva para colonizar a partícula; RTM × E - interação entre ração total misturada e enzima; E – Enzima.

O uso da enzima xilanase no pré-secado não afetou (P > 0,05) a cinética da degradação das RTM baseadas em gramíneas conservadas em forma de pré-secado. No entanto, verificamos influência da cultivar sobre o tempo de colonização das partículas (P = 0,0461) e sobre a taxa de degradação dos carboidratos fibrosos (P = 0,0069). O maior e menor tempo de colonização foi nas RTM contendo pré-secado das gramíneas Marandu e Mombaça, respectivamente. A maior taxa de degradação dos carboidratos fibrosos ocorreu na RTM à base de pré-secado do capim-Massai.

4. DISCUSSÃO

Existe um consenso na literatura em que as características químicas das forragens utilizadas na alimentação de ruminantes, taxa de degradação dos nutrientes, volume total de gás produzido e a produção de CH_4 serem influenciados tanto pelo substrato como pela dose de enzimas exógenas (Soltan et al., 2013; López et al., 2016; Vallejo et al., 2016; Kholif et al., 2017; Sakita et al., 2020). Foi verificado maior teor de PB na RTM à base de capim-Andrapogon. Ressalta-se que a PB é considerada um dos principais componentes das forrageiras, tendo em vista que pode afetar o consumo voluntário de MS (Gaviria-Uribe et al., 2015). A microbiota ruminal requer um mínimo de 70-80 g/kg de MS de PB para otimizar a quebra dos componentes da parede celular, caso contrário, o uso de dietas com níveis de proteína inferiores a estes, pode resultar em redução do consumo de ração (Van Soest, 1994). Aliado a isso, fica evidente a variação na composição química das gramíneas em função das diferentes características morfofisiológicas, impostas pelos diferentes gêneros (Fonseca e Martuscello, 2010).

O processo de pré-secagem com a adição da enzima xilanase associado ao concentrado, em forma de RTM, alterou o conteúdo de fibra dos diferentes tratamentos, sendo que a dieta à base de pré-secado de capim-Andrapogon com xilanase apresentou maior conteúdo de FDN, e as dietas à base de Andrapogon e Mombaça maiores teores de FDA, podendo estar relacionado às características estruturais dessas duas gramíneas forrageiras, as quais apresentam hábito de crescimento ereto, porte alto e grande acúmulo de colmos (Euclides et al., 2015). A taxa de alongamento de colmos é uma característica morfogênica importante a ser avaliada em gramíneas com hábito de crescimento ereto (Rodrigues et al., 2008). Este componente proporciona incremento no rendimento e interfere significativamente na estrutura do dossel forrageiro, principalmente na relação folha:colmo, que por sua vez, influência a qualidade do material. De acordo com Euclides (1995), valores de FDN inferiores a 55% são raros, superiores

a 65% são comuns em tecidos novos e teores entre 75 e 80% são encontrados em materiais de maturidade avançada. O teor de FDN é o fator mais limitante do consumo de volumoso, sendo que teores dos constituintes da parede celular superiores a 60% na MS correlacionam-se negativamente com o consumo, fazendo com que a concentração de FDN seja o componente mais consistentemente associado ao consumo da forragem (Van Soest, 1994). Associado a isso, a cv. Massai apresentou teor de PB abaixo de 70 g/kg de MS, considerado limitador da atividade dos microrganismos do rúmen (Van Soest, 1994; Sampaio et al., 2009).

Percebeu-se que a utilização de uma única enzima (xilanase) não foi o suficiente para o aumento da digestibilidade da fração fibrosa do alimento. Nessa linha, Antônio et al. (2018) utilizou o blend enzimático e demonstrou mais efeitos positivos sobre a degradação das frações fibrosas do que a enzima xilanase isoladamente. Geralmente, a maior diversidade de enzimas contidas no blend enzimático (por exemplo, xilanases, celulases e glucanases) pode explicar seu maior potencial na degradação dos polissacarídeos, aumentando a digestibilidade da FDN, com consequente maior disponibilização de nutrientes. Resultados semelhantes foram encontrados por Feng et al. (1996) que constataram aumento do coeficiente da digestibilidade da MS e FDN, em estudo avaliando a degradabilidade *in vitro* e *in situ* com adição de enzimas (50:50 de celulase e xilanase), de forragens secas, frescas e reidratadas, observando que os maiores coeficientes foram detectados para forragens secas, indicando que o teor de umidade da forragem pode influenciar a efetividade das enzimas.

Embora não tenha ocorrido diferença significativa na degradabilidade das diferentes TRM à base de gramíneas pré-secadas, verificamos uma tendência exercida pela xilanase na redução da produção de CH_4 e na eficiência de CH_4, muito em consequência do melhor padrão de degradabilidade na dieta contendo a adição da enzima fibrolítica, haja vista a não diferença no padrão de produção de gás entre dietas com e sem enzima. Cabe destacar que o aumento da fermentação microbiana proporciona uma maior produção dos produtos finais da fermentação, como AGCC, hidrogênio (H_2) e dióxido de carbono (CO_2), os quais (H_2 e CO_2) são substratos para a produção de CH_4 (Kozloski, 2016), sendo responsáveis por perdas na ordem de 3 - 17% (Beauchemin et al., 2020) e, por aproximadamente 5% das emissões antropogênicas globais de GEE (Shukla et al., 2022).

Assim, a RTM com volumoso de gramíneas pré-secadas com xilanase sugere um melhor padrão de fermentação em função da eficiência do uso dos substratos, com menor produção de CH_4 e consequente redução de perdas metabólicas. Uma vez que, o CH_4 produzido é resultado da conversão ineficiente de energia potencialmente disponível na RTM (McAllister e Newbold,

2008; Kozloski, 2016). No entanto, os resultados baseados no uso dessa enzima ainda permanecem controversos. No estudo de Soltan et al. (2013), o padrão de fermentação ruminal não foi melhorado com a dose de xilanase utilizada. Por outro lado, Sakita et al. (2020) mostrou a eficiência de alta dose de xilanase sobre os parâmetros de fermentação ruminal *in vitro*.

Baseado nisso, percebe-se que alterações nos padrões fermentativos e de degradabilidade dos nutrientes dependem do substrato e da dose utilizada (Soltan et al., 2013; López et al., 2016; Vallejo et al., 2016; Kholif et al., 2017; Sakita et al., 2020). Além disso, a formulação de dieta com alto teor de PB e baixo teor de FDN tendeu a produzir menos CH_4 (Sakita et al., 2020), mostrando que a produção de CH_4 é influenciada pela qualidade da forragem (Soltan et al., 2013; Guyader et al., 2016; Gaviria-Uribe et al., 2020). Por outro lado, Wang et al. (2023) relatou que dietas com forragens de alta qualidade geralmente promovem aumento na quantidade de CH_4 produzida. Porém, a quantidade de CH_4 produzido por unidade de matéria seca consumida diminui devido à maior taxa de passagem de alimento (Hammond et al., 2013). Isso implica que, a oferta de forragem de melhor qualidade aumentará o desempenho do animal ruminante com redução da produção de CH_4 / unidade de carne ou leite produzido (Beauchemin et al., 2020).

A influencia da RTM sobre a produção total de AGCC mostra o efeito direto do substrato sobre o padrão de fermentação ruminal (Elghandour et al., 2016). Dietas com menor teor de fibra potencialmente digestível aliando a uma fermentação de carboidratos solúveis decorrentes da degradação da parede celular (Romero et al., 2015) como, por exemplo, à base de pré-secado de capim-Mombaça, apresentaram aumento de propionato com efeito direto e potencial melhoria na relação acetato/propionato no ambiente ruminal, indicando uso eficiente da energia disponibilizada no rúmen (Arriola et al., 2011) via fermentação microbiana.

Deve ser esclarecido que, embora se busque, através da manipulação da fermentação ruminal, redução na produção de gás como medida mitigadora de CH_4, outros gases são importantes e devem ser produzidos. É importante destacar que produtos da fermentação microbiana são promotores e mantenedores das condições ideais no interior do rúmen (Calsamiglia et al., 2005). Nesse contexto, a formação e utilização do hidrogénio metabólico deve ser síncrono na via metabólica responsável pela oxidação da glicose (glicólise). Esse íon participa da formação de cofatores como NAD^+ e FAD^+, ao mesmo tempo em que aumenta a síntese de trifosfato de adenosina, promove o crescimento da microbiota ruminal (por exemplo, enzimas fibrolíticas), além do controle da pressão osmótica no interior do rúmen (Yokoyama e Johnson, 1993; Calsamiglia et al., 2005).

Em função desse ambiente complexo, o rúmen, é que estratégias mitigadoras de gases indesejáveis (CO_2 e CH_4) e potencializadoras do desempenho animal devem ser traçadas. Destacamos novamente, que o uso da xilanase tendeu mitigar a produção de CH_4 a partir da dieta total misturada à base de gramíneas forrageiras conservadas. Porém, é consenso que mais estudos sejam conduzidos, testando diferentes doses de xilanase paras se determinar o nível ideal ao utilizar o produto.

Os dados mostram um maior volume de gás produzido a partir da degradação dos carboidratos não fibrosos (açúcares solúveis e amido), assim como uma mais rápida taxa de degradação comparada aos carboidratos fibrosos. Isso mostra que o teor de fibra implica redução na digestibilidade da forragem devido à presença de tecidos estruturais (Leal et al., 2020; Molina-Botero et al., 2020, Valencia-Salazar et al., 2021), acarretando maior tempo para degradação desses componentes.

Os microrganismos ruminais colonizaram mais rapidamente as RTM das gramíneas Marandu, Massai e Andrapogon, sugerindo uma mais rápida aderência, penetração (McAllister et al., 1994) e degradação das rações dessas forrageiras em comparação ao Mombaça. A aderência dos microrganismos ao substrato ofertado representa o início no processo de digestão (Berchielli et al., 2011; Hobson e Stewart, 2012). Essa aderência é influenciada, principalmente pelo tamanho e estrutura da partícula, visto que determina a superfície de ataque para os microrganismos e influencia diretamente no tempo de colonização do alimento (Nocek, 1988; Ørskov et al., 1980; Soltis et al., 2023). Assim, quanto menor o tempo de colonização, mais rápido será a degradação do alimento e quanto maior o tempo de colonização, menor será a taxa de degradação, e o alimento não degradado presente no rúmen impedirá o consumo de mais alimento pelo animal (Ørskov e McDonald, 1979; Soltis et al., 2023).

5. CONCLUSÕES

A dose utilizada da enzima xilanase não alterou a degradabilidade das dietas à base de pré-secado de gramíneas tropicais. Contudo, tendeu a mitigar a produção de CH_4 por kg de matéria orgânica degradada. Portanto, outros estudos avaliando a adição de diferentes doses de xilanase no pré-secado devem ser realizados, buscando identificar o nível ótimo do produto e a verdadeira eficácia da enzima no aumento da degradabilidade de dietas, visando o estabelecimento da técnica de pré-secagem como forma de garantir a oferta de alimento de qualidade ao longo do ano, contribuindo para a produção animal sustentável.

REFERÊNCIAS

Abdalla, A.L., Louvandini, H., Sallam, S.M.A.H., Bueno, I.C.S., Figueira, A.V.O., 2012. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. Tropical Animal Health and Production, 44, 953-964. https://doi.org/10.1007/s11250-011-9992-0.

Adesogan, A.T., MA, Z.X., Romero, J.J., Arriola, K.G., 2011. Improving cell wall digestion and animal performance with fibrolytic enzymes. Journal of Animal Science, 92(4), 1317-1330, 2014. doi: 10.2527/jas.2013-7273.

Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Moraes, G., Leonardo, J., Sparovek, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. Revista Brasileira de Meteorologia, 22,711-728. Doi: 10.1127/0941-2948/2013/0507.

AOAC. 2011. Official Methods of Analysis of AOAC International; AOAC International: Gaithersburg, MD, USA.

Arriola, K.G., Kim, S.C., Staples, C.R., Adesogan, A.T., 2011. Effect of fibrolytic enzyme application to low- and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. Journal of Dairy Science, 94, 832–841. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3424.

Balehegn, M., Ayantunde, A., Amole, T., Njarui, D., Nkosi, B.D., Müller, F.L., Meeske, R., Tjelele, T.J., Malebana, I.M., Madibela, O.R., Boitumelo, W.S., Lukuyu, B., Weseh, A., Minani, E., Adesogan, A.T., 2022. Forage conservation in sub-Saharan Africa: Review of experiences, challenges, and opportunities. Agronomy Journal, 114, 75–99 https://doi.org/10.1002/agj2.20954.

Beauchemin, K.A., Kreuzer, M.O.F., Mara, P.O., MCallister, T.A., 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. Australian Journal of Experimental Agriculture, 48(2), 21, 2008. https://doi.org/10.1071/EA07199.

Beauchemin, K.A., Ungerfeld, E.M., Eckard, R.J., Wang, M., 2020. Review: fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. Animal 14, 2-16. https://doi.org/10.1017/S1751731119003100.

Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G., 2011. Nutrição de Ruminantes. FUNEP.

Blümmel, M., Makkar, H.P.S., Becker, K., 1997**.** In vitro gas production: A technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77, 24–34. DOI: 10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x.

Bueno, I.C.S., Filho, S.L.C., Gobbo, S.P., Louvandini, H., Vitti, D.M., Abdalla, A.L., 2005. Influence of inoculum source in a gas production method. Animal Feed Science and Technology, 123, 95–105. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.05.003.

Calsamiglia, S., Castillejos, L., Busquet, M., 2005. "Estrategias nutricionales para modificar la fermentación ruminal en vacuno lechero," in XXI Curso de Especialización, eds P. G. Rebollar, C. de Blass, and G. G. Mateos (Barcelona: Sitio Argentino de Producción Animal), 161–185.

Cerri, C.C., Moreira, C.S., Alves, P.A., Raucci, G.S., Castigioni, B.A., Mello, F.F.C., Cerri, D.G.P., Cerri, C.E.P., 2016. Assessing the carbon footprint of beef cattle in Brazil: a case study with 22 farms in the State of Mato Grosso. Journal of Cleaner Production, 112, 2593–2600. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.10.072.

Cheng, M., McCarl, B., Fei, C., 2022. Climate Change and Livestock Production: A Literature Review. Atmosphere. 13(1), 140. https://doi.org/10.3390/atmos13010140.

Cottle, D.J., Nolan, J.V., Wiedemann, S.G., 2011. Ruminant enteric methane mitigation: a review. Anim. Prod. Sci. 51(6), 491. https://doi.org/10.1071/AN10163.

Díaz, A., Ranilla, M. J., Giraldo, L. A., Tejido, M.L., Carro, M.D., 2015. Treatment of tropical forages with exogenous fibrolytic enzymes: effects on chemical composition and in vitro rumen fermentation. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 99(2), 345–55. https://doi.org/10.1111/jpn.12175.

Edvan, R.L., Linhares, F.L., Nascimento, R.R, Barros, D.M.A., Santos, E.M., Azevedo, F.L., Sousa, L.B., Santos, K.N., Dias-Silva, T.P., Araújo, M.J., 2023. Quality of Tanzania grass (Panicum maximum) haylage in relation to plant dry matter content. Rev. Fac. Cienc. Agrar. 55(1), 38-52. https://doi.org/10.48162/rev.39.094.

Elghandour, M.M.Y., Kholif, A.E., Hernández, J., Mariezcurrena, M.D., López, S., Camacho, L.M., Márquez, O., Salem, A.Z.M., 2016. Influence of the addition of exogenous xylanase with or without pre-incubation on the in vitro ruminal fermentation of three fibrous feeds. Czech Journal of Animal Science, 61(6), 262–272. http://dx.doi.org/10.17221/52/2015-CJAS.

Euclides, V.P.B., Lopes, F.C., Nascimento Jr, D., Silva, S., Difante, G.S., Barbosa, R.A., 2015. Steer performance on *Panicum maximum* (cv. Mombaça) pastures under two grazing intensities. Animal Production Science, 56(11), 1849-1856 https://doi.org/10.1071/AN14721.

Fonseca, D.M., Martuscello, J.A., 2010. Plantas forrageiras, Viçosa: Editora da UFV.

Franco, M.O., Detmann, E., Batista, E.D., Rufino, L.M.A., Paulino, M.F;, Valadares Filho, S.C., 2021. Nutritional performance and metabolic characteristics of cattle fed tropical forages with protein and starch supplementation. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 93(3), e20190487. https://doi.org/10.1590/0001-3765202120190487.

Gado, H.M., Elghandour, M.M.Y., Cipriano, M.., Odongo, N.E., Salem, A.Z.M. 2017. Rumen degradation and nutritive utilization of wheat straw, corn stalks and sugarcane bagasse ensiled with multienzymes. Journal of Applied Animal Research, 45(1), 485–489. https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1217866.

Gaviria-Uribe, X., Bolivar, D., Rosenstock, T., Molina-Botero, I.C., Chirinda, N., Barahona, R., 2020. Nutritional quality, voluntary intake and enteric methane emissions of diets based on novel Cayman grass and its associations with two Leucaena shrub legumes. Frontiers in Veterinary Science, 7, 579189. doi: 10.3389/fvets.2020.579189.

Gaviria-Uribe, X., Naranjo-Ramírez, J.F, Bolívar-Vergara, D.M., Barahona-Rosales, R., 2015. Consumo y digestibilidad en novillos cebuínos en un sistema silvopastoril intensivo. Archivos de Zootecnia, 64, 21-27. 10.21071/az.v64i245.370.

Gerber, P.J., 2013a. Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Roma.

Gerber, P.J., Hristov, A.N., Henderson, B., Makkar, H., Oh, J., Lee, C., Meinen, R., Montes, F., Ott, T., Firkins, J., Rotz, A., Dell, C., Adesogan, A.T., Yang, W.Z., Tricarico, J.M., Kebreab, E., Waghorn, G., Dijkstra, J., Oosting, S., 2013b. Technical options for the mitigation of direct methane and nitrous oxide emissions from livestock: a review. Animal, 7(2), 220–234. https://doi.org/10.1017/S1751731113000876.

Guyader, J., Janzen, H.H., Kroebel, R., Beauchemin, K.A., 2016. Forage use to improve environmental sustainability of ruminant production. Journal of Animal Science, 94, 3147–3158. https://doi. org/10.2527/jas.2015-0141.

Hammond, K.J., Burke, J.L., Koolaard, J.P., Muetzel, S., Pinares-Patino, C.S., Waghorn, G.C., 2013. Effects of feed intake on enteric methane emissions from sheep fed fresh white clover (Trifolium repens) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*) forages. Animal Feed Science and Technology, 179, 121–132. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.11.004.

Hernández, A. Kholif, A.E., Elghandour, M.M.M.Y., Camacho, L.M., Cipriano, M.M., Salem, A.Z.M., Cruz, H., Ugbogu, E., 2017. Effectiveness of xylanase and Saccharomyces cerevisiae as feed additives on gas emissions from agricultural calf farms. Journal of Cleaner Production, 148, 616–623. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.070.

Hobson, P.N., Stewart, C.S., 2012. Rumen microbial ecosystem (2nd ed.). Blackie Academic & Professional.

IPCC, 2007. Climate change 2007: The physical science basis. Summary for policymakers. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In: p. 1-18. In S. SOLOMON, S. et al. (ed.) Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Jørgensen, H., Kristensen, J.B., Felby, C., 2007. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 1(2), 119–134, 2007. https://doi.org/10.1002/bbb.4.

Kholif, A.E., Gouda, A.G., Morsy, T.A., Matloup, O.H., Fahmy, M.; Gomaa, A.S., Patra, A.K., 2017. Anaerobic ensiling of raw agricultural waste with a fibrolytic enzyme cocktail as a cleaner and sustainable biological product. Journal of Cleaner Production, 142, 2649–2655. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.012.

Kozloski, G.V., 2016. Bioquímica dos Ruminantes, 3rd ed.; Editora UFMS: Santa Maria, Brazil,

Ku-Vera, J.C., Castelán-Ortega, O.A., Galindo-Maldonado, F.A., Arango, J., Chirinda, N., Jiménez-Ocampo, R., 2020. Review: strategies for enteric methane mitigation in cattle fed tropical forages. Animal 4, 453–463. doi: 10.1017/S1751731120001780.

Leal, E.S., Ítavo, L.C.V., Valle, C.B., Ítavo, C.C.B.F., Dias, A.M., Difante, G.S., Barbosa-Ferreira, M., Nonato, L.M., Melo, G.K.A., Gurgel, A.L.C., 2020. Influence of protodioscin content on digestibility and *in vitro* degradation kinetics in *Urochloa brizantha* cultivars. Crop and Pasture Science, 71, 278–284. https://doi.org/10.1071/CP18357.

Lima, P.M.T., Moreira, G.D., Sakita, G., Natel, A.S., Mattos, W.T., Gimenes, F.M.A., Gerdes, L., McManus, C., Abdalla, A.L., 2017. Louvandini, H. Nutritional evaluation of the legume Macrotyloma axillare using in vitro and in vivo bioassays in sheep. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 102, 669–676. https://doi.org/10.1111/jpn.12810.

Longo, C., Bueno, I.C.S., Nozella, E., Goddoy, P., Filho, S.C., Abdalla, A.L., 2006. The influence of head-space and inoculum dilution on in vitro ruminal methane measurements. Int. Congr. Ser. 1293, 62–65. https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.017.

López, D., Vázquez-Armijo, J.F., López-Villalobos, N., Lee-Rangel, H.A., Salem, A.Z.M., Borquez-Gastelum, J.L., Rojo-Rubio, R. 2016. In vitro gas production of foliage from three browse tree species treated with different dose levels of exogenous fibrolytic enzymes.

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 100, 920-928. https://doi.org/10.1111/jpn.12467.

Martha Jr, G.B., Vilela, D., Sousa, D.M.G., 2007. Cerrado: uso eficiente de corretivos e fertilizantes em pastagens. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.224.

Mauricio, R.M., Mould, F.L., Dhanoa, M.S., Owen, W., Channa, K.S., Theodorou, M.K., 1999. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal Feed Science and Technology, 79, 321–330.

McAllister, T.A., Bae, H.D., Jones, G.A., Cheng, K.J., 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. Journa of Animal Science, 72(11), 3004–3018. https://doi.org/10.2527/1994.72113004x.

McAllister, T.A., Newbold, C.J., 2008. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. Australian Journal of Experimental Agriculture, 48, 7–13. https://doi.org/10.1071/EA07218.

Meale, S.J., Beauchemin, K.A., Hristov, A.N., Chaves, A.V., Mcallister, T.A., 2014. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. Journal of Animal Science, 92(2), 427–442. https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715.

Medeiros, R.M., Santos, D.C., Sousa, F.A.S., 2013. Análise Climatológica, Classificação Climática e Variabilidade do Balanço Hídrico Climatológico na Bacia do Rio Uruçui Preto, PI. Revista Brasileira de Geografia Física, 6, 652-664.

Mertens, D.R., 2003. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. Journal of AOAC International, 85, 1217–1240.

Molina-Botero, I.C., Mazabel, J., Arceo-Castillo, J., Urrea-Benitez, J.L., Olivera-Castillo, L., Barahona-Rosales, R., 2020. Effect of the addition of Enterolobium cyclocarpum pods and Gliricidia sepium forage on dry matter degradation, volatile fatty acid con-centration, and in vitro methane production. Tropical Animal Health and Production, 52, 2787–2798. doi: 10.1007/s11250-020-02324-4.

Nocek, J.E., 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. Journal of Dairy Science, 71(8), 2051–2069. https://doi.org/http:dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79781-7.

Ørskov, E.R., Hovell, F.D.D, Mould, F., 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Tropical Animal Health and Production, 5(3), 195–213.

Ørskov, E.R., McDonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. The Journal of Agricultural Science, 92(2), 499–503. https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0021859600063048.

Palmquist, D.L., Conrad, H.R., 1971. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. Journal of Dairy Science, 54, 1025–1033.

Patra, A., Park, T., Kim, M., Zhongtang Yu., 2017. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. Journal of Animal Science, Biotechnol. 8, 13 https://doi.org/10.1186/s40104-017-0145-9.

Pereira, M.G., Difante, G.S., Itavo, L.C.V., Rodrigues, J.G., Gurgel, A.L.C., Dias, A.M., Ítavo, C.C.B.F., Costa, A.B.G., Monteiro, G.O., 2022. Production potential and quality of Panicum maximum cultivars established in a semi-arid environment. Tropical Animal Science Journal, 45, 308-318. https://doi.org/10.5398/tasj.2022.45.3.308.

Rodrigues, RC., Mourão, G.B., Brennecke, K., Luz, P.H.C., Herling, V.R.R., 2008. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do Brachiaria brizantha cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. Revista Brasileira de Zootecnia, 37 (3), 394-400, https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000300003.

Romero, J.J., Zarate, M.A., Arriola, K.G., Gonzalez, C.F., Silva-Sanchez, C., Staples, C.R., Adesogan, A.T., 2015. Screening exogenous fibrolytic enzyme preparations for improved in vitro digestibility of bermudagrass haylage. Journal of Dairy Science, 98, 2555–2567. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8059.

Ruviaro, C.F., Léis, C.M., Lampert, V.D.N., Barcellos, J.O.J., Dewes, H., 2015. Carbon footprint in different beef production systems on a southern Brazilian farm: A case study. Journal of Cleaner Production, 96, 435–443. https://doi.org/10.1016/j.jclep ro.2014.01.037.

Sakita, G.Z., Bompadre, T.F.V., Dineshkumar, D., Lima, P.M.T., Filho, A.L.A., Campioni, T.S., Neto, P.O., Neto, H.B., Louvandini, H., Abdalla A.L., 2020. Fibrolytic enzymes improving in vitro rumen degradability of tropical forages. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 104, 1267-1276. https://doi.org/10.1111/jpn.13373.

Sampaio, C.B., Detmann, E., Lazzarini, I., 2009. Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. Revista Brasileira de Zootecnia, 38, 560-569. https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000300023.

Schofield, P., Pitt, R.E., Pell, A.N., 1994. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. Journal of Animal Science, 72, 2980–2991. https://doi.org/10.2527/1994.72112980x.

Shukla, P.R., Skea, J., Slade, R., Khourdajie, A.A., Rv, Diemen, et al., McCollum, D., 2022. IPCC Sixth Assessment Report (AR6): Climate Change 2022: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.

Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., Russel, J.B., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. Journal of Animal Science, 70, 3562–3577.

Soltan, Y.A., Morsy, A.S., Sallan, S.M.A., Lucas, R.S., Louvandini, H., Kreuzer, M., Abdalla, A.L., 2013. Contribution of condensed tannins and mimosine to the methane mitigation caused by feeding Leucaena leucocephala. Archives of Animal Nutrition, 67, 169–184. https://doi.org/10.1080/1745039X.2013.801139.

Soltis, M.P., Moorey, S.E., Egert-McLean, A.M., Voy, B.H., Shepherd, E.A., Myer, P.R., 2023. Rumen Biogeographical Regions and Microbiome Variation. Microorganisms. 11(3), 747. doi: 10.3390/microorganisms11030747.

Tang, S.X., Zou, Y., Wang, M., Salem A.Z.M., Odongo, N.E., Zhou, C.S., Huang, S.Q,; He, Z.X., Kang, J.H., 2013. Effects of exogenous cellulase source on in vitro fermentation characteristics and methane production of crop straws and grasses. Animal Nutrition and Feed Technology, 13(3), 489–505.

Theodorou, M.K., Wilian, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., Drance, J., 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48, 185–197. https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6.

Valencia-Salazar, S.S., Jiménez-Ferrer, G., Arango, J., Molina-Botero, I., Chirinda, N., Piñeiro-Vázquez, A., 2021. Enteric methane mitigation and fermentation kinetics of forage species from Southern Mexico: in vitro screening. Agroforestry Systems, 95, 293–305. https://doi.org/10.1007/s10457-020-00585-4.

Vallejo, L.H., Salem, A.Z.M., Kholif, A.E., Elghangour, M.M.Y., Fajardo, R.C., Rivero, N., Mariezcurrena, M.D., 2016. Influence of cellulose or xylanase on the in vitro rumen gas

production and fermentation of corn stover. The Indian Journal of Animal Sciences, 86, 70–74. DOI: 10.56093/ijans.v86i1.55025.

Vallejo-Hernández, L.H., Elghandour, M.M.Y., Greiner, R., Anele, U.Y., Rivas-Cáceres, R.R., Barros-Rodríguez, M., Salem, A.Z.M., 2018. Environmental impact of yeast and exogenous xylanase on mitigating carbon dioxide and enteric methane production in ruminants. Journal of Cleaner Production, 189, 40–46. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.310.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. Journal of Dairy Science, 74, 3583–3597.

Wang, K., Xiong, B., Zhao, C., 2023. Could propionate formation be used to reduce enteric methane emission in ruminants? Science of The Total Environment, 855, 158867, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158867.

Wróbel, B., Zielewicz, W., Staniak, M., 2023. Challenges of Pasture Feeding Systems—Opportunities and Constraints. Agriculture, 13(5), 974. https://doi.org/10.3390/agriculture13050974.

Yáñez-Ruiz, D.R., Bannink, A., Dijkstra, J., Kebreab, E., Morgavi, D.P., O'Kiely, P., Reynolds, C.K., Schwarm, A., Shingfiedl, K.J., Hristov, A.N., 2016. Design, implementation and interpretation of in vitro batch culture experiments to assess enteric methane mitigation in ruminants - A review. Animal Feed Science and Technology, 216, 1–18. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.016.

Yokoyama, M.T., Johnson, K.A., 1993. "Microbiología del rumen e intestino," in El rumiante: fisiología digestiva y nutrición, ed D. C. Church (Zaragoza: Acribia S.A.), 137–156.