

# Modelos matemáticos para ajuste da produção de gases *in vitro* em diferentes tempos de incubação e cinética ruminal de silagens de milho

## Mathematical models for adjustment of *in vitro* gas production at different incubation times and kinetics of corn silages

João Pedro Velho<sup>1\*</sup>; Paulo Roberto Frenzel Mühlbach<sup>2</sup>;  
Teresa Cristina Moraes Genro<sup>3</sup>; Júlio Otávio Jardim Barcellos<sup>2</sup>;  
José Braccini Neto<sup>2</sup>; Renata Suñé Martins da Silva<sup>3</sup>

### Resumo

No presente trabalho, com silagens de planta inteira de milho em diferentes estádios de maturidade, objetivou-se avaliar os modelos matemáticos Exponencial, France, Gompertz e Logístico para estudar a cinética de produção de gases *in vitro* com incubações por 24 e 48 horas. Utilizou-se a técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases (TIVPG) determinando o volume de gases com uma, três, seis, oito, dez, 12, 14, 16, 22, 24, 31, 36, 42 e 48 horas de incubação. Avaliou-se o ajuste dos modelos através do quadrado médio do erro, viés médio, raiz quadrada do erro médio de estimativa e erro residual. O modelo matemático de melhor ajuste para descrever a cinética de produção de gases *in vitro* em forragens de milho foi o Gompertz, para ambas as incubações de 24 e 48 horas. O modelo France não é adequado para descrever a cinética de produção de gases com tempos menores ou iguais a 48 horas de incubação. A técnica *in vitro* de produção de gases foi eficiente em detectar diferença no valor nutricional de silagens de milho produzidas em diferentes estádios de maturidade. Incubações *in vitro* por 24 horas não mascararam os efeitos dos tratamentos na ensilagem, enquanto tempos de 48 horas são inadequados para mensurar a digestibilidade da matéria orgânica de silagens de milho.

**Palavras-chave:** Digestibilidade, exponencial, gompertz, logístico, modelos não-lineares, silagem

### Abstract

In the present work, with whole plant silage corn at different stages of maturity, aimed to evaluate the mathematical models Exponential, France, Gompertz and Logistic to study the kinetics of gas production *in vitro* incubations for 24 and 48 hours. A semi-automated *in vitro* gas production technique was used during one, three, six, eight, ten, 12, 14, 16, 22, 24, 31, 36, 42 and 48 hours of incubation periods. Model adjustment was evaluated by means of mean square of error, mean bias, root mean square prediction error and residual error. The Gompertz mathematical model allowed the best adjustment to describe the gas production kinetics of maize silages, regardless of incubation period. The France model was not adequate to describe gas kinetics of incubation periods equal or lower than 48 hours. The *in vitro* gas production technique was efficient to detect differences in nutritional value of maize silages from

<sup>1</sup> Prof. Adjunto, Deptº de Zootecnia e Ciências Biológicas, Campus Palmeira das Missões, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Palmeira das Missões, RS. E-mail: velhojp@ufsm.br

<sup>2</sup> Profs. Associados, Deptº de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS. E-mail: muhlbach@orion.ufrgs.br; julio.barcellos@ufrgs.br; jose.braccini@ufrgs.br

<sup>3</sup> Pesquisadoras, EMBRAPA Pecuária Sul, Bagé, RS. E-mail: cristina.genro@embrapa.br; renata.sune@embrapa.br

\* Autor para correspondência

different growth stages. Twenty four hours *in vitro* incubation periods do not mask treatment effects, whilst 48 hour periods are inadequate to measure silage digestibility.

**Key words:** Digestibility, exponential, gompertz, logistical, nonlinear models, silage

## Introdução

A maioria das técnicas laboratoriais que avaliam os alimentos para uso na nutrição de ruminantes são desenvolvidas para volumosos e/ou concentrados com algumas ressalvas quanto ao tipo de amostra a ser analisada. Por exemplo, quando se determina fibra em detergente neutro em alimentos amiláceos, deve-se adicionar a enzima alfa-amilase para que o valor não seja superestimado. No entanto, silagens de milho com alta concentração energética geralmente apresentam grande quantidade de amido, de forma que este alimento pode ser considerado simultaneamente um volumoso e também um concentrado e algumas técnicas podem não ser precisas para alimentos dessa natureza.

Uma das técnicas atualmente utilizadas para avaliar esse tipo de alimento é a técnica *in vitro* de produção de gases que, além de gravimétrica também é metabólica, mas pode apresentar limitações, visto que protocolos padrões com tempos de 48, 72 e 96 horas de incubação podem prejudicar a interpretação de efeitos oriundos de tratamentos experimentais sobre as partes mais digestíveis. A digestibilidade dos alimentos deve ser mensurada com 24 horas de incubação *in vitro*, visto que, segundo Van Soest (1994), tempos maiores representam a indigestibilidade. Esse mesmo autor afirma que a maior proporção da proteína microbiana, formada ao longo de 24 horas, é decorrente da fermentação dos alimentos consumidos neste mesmo tempo. Portanto, a cinética de produção de gases *in vitro* também deve ser avaliada com 24 horas de incubação, uma vez que a metabolização dos nutrientes nesse tempo é que influenciará fundamentalmente o consumo e o desempenho animal. A técnica *in vitro* de produção de gases permite detectar alterações no valor nutricional de silagens de milho produzidas com

diferentes teores de matéria seca e com variações na compactação das mesmas (SENGER et al., 2007).

A taxa de degradação dos alimentos é um parâmetro importante a ser considerado, porque distintos alimentos podem ter a mesma magnitude de degradação, porém com diferentes taxas de degradação e valores mais altos para taxa de degradação aumentam o fluxo de saída das partículas para fora do rúmen, permitindo maior ingestão de alimentos (ORSKOV, 1998).

No entanto, deve-se ter o cuidado de se utilizar o modelo matemático mais adequado para o ajuste das taxas de degradação, as quais podem variar em função do modelo. O modelo perfeito para ajustar a cinética de produção de gases dos valores obtidos pela técnica *in vitro* deve ser capaz de modelar variações da curva sem ponto de inflexão, bem como de curvas sigmóides em que o ponto de inflexão é variável (FRANCE et al., 2005). Não se deve utilizar indiscriminadamente um único modelo para todos os tipos de substrato, sendo fundamental a avaliação de diferentes modelos em cada situação (NOGUERA; SALIBA; MAURÍCIO, 2004). No presente trabalho, com silagens de planta inteira de milho em diferentes estádios de maturidade (Grão completamente leitoso e Grão ½ leitoso ½ farináceo), objetivou-se avaliar diferentes modelos matemáticos: Exponencial, France, Gompertz e Logístico para estudar a cinética de produção de gases e a digestibilidade *in vitro* com incubações por 24 e 48 horas.

## Material e Métodos

O trabalho de campo foi desenvolvido em propriedade particular no município de Palmeira das Missões, RS. O solo é classificado como Latossolo vermelho distrófico típico Lvd3 (STRECK et al.,

2002) e o clima é do tipo Cfa, subtropical, com verões quentes e chuvas bem distribuídas ao longo do ano, com temperatura média de 22°C no período mais quente (MORENO, 1961).

O híbrido triplo de milho AG5011, de ciclo precoce, com grão dentado, de cor amarela, é recomendado pela empresa de sementes como híbrido para “safrinha” na Região Sul do país. A semeadura ocorreu em janeiro de 2004, com espaçamento entrelinhas de 0,75 m e o estande final de plantas atingiu 50.000/ha. A adubação de base NPK foi de 250 kg/ha da fórmula 08-18-28 e a adubação de cobertura nitrogenada com ureia foi de 100 kg/ha, dividida em duas aplicações.

A colheita das plantas de milho foi realizada manualmente por meio do corte a 15 cm do nível do solo de uma lavoura comercial cultivada em sistema de plantio direto. Foram realizadas duas colheitas, a primeira no dia 26 de abril de 2004, quando os grãos apresentavam-se no estágio completamente leitoso (GL), e a segunda em 18 de maio de 2004, quando os grãos atingiram o estágio ½ leitoso ½ farináceo (GF).

A colheita das plantas em ambos os estádios de maturidade ocorreu entre as 16 e 18h do dia e, no momento dos cortes, foram desprezadas as bordaduras da cabeceira (5 m) da lavoura de milho, seguindo-se com o corte das demais plantas até atingir, aproximadamente, 1.000 kg de matéria verde em cada corte. A seguir, as plantas foram picadas em ensiladeira regulada para tamanho de corte médio de 1,2 cm.

A ensilagem foi em minissilos constituídos de dois sacos plásticos com 12 micras de espessura, sobrepostos. Para facilitar a compactação, efetuou-se o pisoteio nos sacos introduzidos e armados sobre baldes plásticos com capacidade para 20 L. Antes do fechamento dos sacos plásticos (minissilos), realizou-se sucção com aspirador de pó doméstico para a retirada de eventual ar residual. Dez horas após a vedação, os minissilos foram retirados dos baldes e armazenados em sala fechada, protegidos

da radiação solar.

O enchimento e fechamento para os demais tratamentos ocorreram 12, 24 e 36 horas após picagem e exposição do material ao ar, sem compactação. A ensilagem foi realizada ao anoitecer para os tratamentos zero e 24 horas (às 19 h) e ao amanhecer (às 7 h) para os tratamentos 12 e 36 horas de exposição ao ar antes da ensilagem.

Anteriormente às ensilagens, amostras das plantas verdes (material fresco) de cada tratamento foram coletadas (1 kg de cada tratamento), acondicionadas em sacos plásticos e congeladas a -18°C. No momento da abertura, desprezaram-se as camadas superiores, inferiores e laterais da silagem de cada minissilo. Imediatamente à amostragem, determinou-se o teor de matéria parcialmente seca, por meio da secagem de parte do material em estufa de circulação forçada e renovação de ar a  $55 \pm 0,1^\circ\text{C}$  por 72 horas até peso constante. As amostras foram moídas em moinho do tipo *Willey* com peneira de 1 mm.

O estudo da cinética de degradação da matéria seca foi realizado através da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases (TIVSPG) conforme Maurício et al. (1999). Foi incubada um grama de amostra por frasco com capacidade de 160 mL dos quais 90 mL foram ocupados por meio de cultura, segundo Theodorou et al. (1994) e por dez mL de inóculo ruminal, restando 60 mL para expansão dos gases produzidos na fermentação. A injeção dos 90 mL do meio de cultura foi realizada cinco horas antes da inoculação propriamente dita dos frascos, que permaneceram em estufa a 39°C. Além da coleta de líquido ruminal, foi retirada uma parte de material sólido do rúmen e agitados juntamente com o líquido em liquidificador na proporção de 1:1, durante vinte segundos. Após, foram filtrados em sacos de náilon com porosidade de 48 micras. A pressão ocasionada pelo acúmulo de gases, decorrente da fermentação nos tempos uma, três, seis, oito, dez, 12, 14, 16, 22, 24, 31, 36, 42 e 48 horas, foi mensurada usando-se um transdutor

de pressão tipo PDL 200 e para transformação da pressão em volume utilizou-se a equação estabelecida no Laboratório de Nutrição Animal da EMBRAPA Pecuária Sul descrita por Velho et al. (2003). Foram retiradas garrafas nos tempos de 24 e 48 horas, após a incubação, determinando-se a digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica. O fator de partição foi calculado conforme Makkar (2004), utilizando os dados de 24 horas.

O inóculo foi retirado de um boi da raça Jersey, de cinco anos de idade e peso médio de 500 kg, o qual ficava em um potreiro de 0,2 hectare com disponibilidade constante de água potável e pastagem com presença de trevo branco (*Trifolium repens*), cornichão (*Lotus corniculatus*), capim quicuio (*Pennisetum clandestinum* Hochs) e capim annoni 2 (*Eragrostis plana* Nees). Dez dias antes da retirada do inóculo, além da pastagem, o boi foi alimentado diariamente com seis kg de matéria seca de silagem de milho de planta inteira e dois kg de concentrado.

O experimento foi realizado com delineamento completamente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 4 (dois estádios de maturação e quatro tempos de exposição ao ar antes da ensilagem), com duas repetições por tratamento, considerando-se os minissilos as unidades experimentais. As análises estatísticas foram realizadas de acordo com o modelo:  $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$ , em que:  $Y_{ijk}$  = variável resposta;  $\mu$  = média geral da variável;  $\alpha_i$  = efeito do fator estádio do grão de milho,  $i$  = grão completamente leitoso e grão ½ leitoso ½ farináceo;  $\beta_j$  = efeito do fator tempo de exposição ao ar,  $j$  = 0, 12, 24 e 36 horas;  $(\alpha\beta)_{ij}$  = efeito da interação estádio de maturidade do grão de milho x tempo de exposição ao ar;  $\epsilon_{ijk}$  = erro aleatório.

Os dados das amostras de ensilagem (originais) foram submetidos à análise estatística descritiva e os das silagens à análise de variância por meio do *software* SAS (2000), aplicando-se o teste de comparação entre médias (Tukey a 5%) para as variáveis que apresentaram diferença estatística.

Os volumes de gases gerados durante as incubações *in vitro* por 24 e 48 horas foram submetidos aos seguintes modelos matemáticos: Exponencial  $V_T = \Sigma VAs * (1 - \exp(-Tx * (t - Tc)))$ ; France  $V_T = \Sigma VAs * \{1 - \exp[-b * (t - Tc) - c * (\sqrt{t} - \sqrt{Tc})]\}$ ; Gompertz  $V_T = \Sigma VAs * \exp(-c) * (\exp(-EM * t))$  e Logístico  $V_T = \Sigma VAs * (1 + \exp(2 - 4 * Sn * (t - Tc)))^{-1}$ ; em que:  $V_T$  = volume de gases no tempo  $t$  (mL);  $\Sigma VAs$  = Volume de gases correspondente a completa digestão do substrato (mL);  $Tx$  e  $Sn$  = indicam a taxa constante de degradação (%/h);  $t$  = tempo (h);  $Tc$  = tempo de colonização do substrato (h);  $EM$  = fator constante de eficiência microbiana (%).

As estimativas dos parâmetros de cinética dos modelos supracitados foram geradas utilizando-se o procedimento de modelo não-linear (PROC NLIN) do *software* SAS (2000), usando o algoritmo de Marquardt. Para avaliar qual modelo apresentou melhor ajuste comparou-se o quadrado médio do erro (QME) obtido para cada amostra em cada modelo nos tempos de incubação de 24 e 48 horas. Além deste critério, calculou-se o viés médio, raiz quadrada do erro médio de estimativa (RQEME) e erro residual, conforme descrito por Meyer et al. (2006).

## Resultados e Discussão

O modelo Gompertz foi o que apresentou menor valor para os critérios QME, RQEME e erro residual (Tabela 1), em ambos os tempos de incubação *in vitro* (24 e 48 horas), razão pela qual a apresentação e discussão foram feitas com base apenas nesse modelo, visto que valores menores indicam melhor ajuste. Em segundo ficou o modelo Logístico e em terceiro o Exponencial, sendo que nesse último o PROC NLIN do SAS (2000) não convergiu em dez amostras incubadas por 24 horas. O modelo France não convergiu para nenhuma amostra avaliada, provavelmente precisaria de maior tempo de incubação, uma vez que o número de observações (14) até 48 horas de incubação foi igual aos de Noguera, Saliba e Maurício (2004), porém estes autores incubaram até 96 horas.

**Tabela 1.** Valores médios do volume de gases observado e estimado, em cada tempo, pelos diferentes modelos e estatísticas para avaliação do ajuste, referentes a incubações *in vitro* por 24 e 48 horas de 24 amostras de forragens de milho.

Horário de leitura dos gases (h)	Valores observados (mL)		Valores estimados pelos modelos (mL)					
	24h	48h	Exponencial		Gompertz		Logístico	
			24h†	48h	24h	48h	24h	48h
1	7,1		4,5	-0,2	8,6	12,7	12,7	20,2
3	18,0		21,7	17,0	16,8	20,5	19,0	26,3
6	34,6		45,6	40,4	34,5	36,1	33,5	38,2
8	49,0		60,4	54,7	48,8	48,5	46,5	48,2
10	63,8		74,2	67,9	63,8	61,8	61,8	59,7
12	78,0		87,3	80,1	78,6	75,4	78,0	72,4
14	92,0		99,5	91,5	92,5	89,0	93,7	85,9
16	105,9		111,1	102,1	105,0	102,0	107,6	99,7
22	131,7		142,0	129,5	132,9	135,5	133,4	137,3
24	140,4		151,2	137,4	139,4	144,4	137,6	147,3
31	--	164,0	--	161,1	--	167,8	--	171,0
36	--	177,5	--	174,8	--	178,3	--	179,5
42	--	187,9	--	188,5	--	186,3	--	184,5
48	--	195,1	--	199,6	--	190,7	--	186,7
Critérios estatísticos para avaliar o ajuste dos modelos								
Quadrado médio do erro			13,64	21,37	1,58	15,16	9,77	59,18
Viés médio			0,21	0,00	0,03	0,30	0,33	0,85
RQEME			3,00	4,00	1,04	3,40	2,50	6,74
Erro residual			3,00	4,00	1,04	3,38	2,48	6,68

† Médias referentes a 14 amostras, visto que para dez amostras o PROC NLIN não convergiu;

RQEME = Raiz quadrada do erro médio de estimativa.

Fonte: Elaboração dos autores.

A convergência do processo iterativo para obtenção das soluções dependerá da substituição dos parâmetros por seus prováveis valores (SAMPAIO, 2002). Assim, de modo a excluir uma possível dúvida sobre a utilização do modelo France, os valores iniciais que disparam o processo iterativo na busca de um valor mínimo para a soma de quadrados do erro foram alterados para haver maior amplitude e testados, mas a não convergência perdurou. Portanto, o modelo France não é adequado para descrever a cinética dos gases em tempos que determinam a digestibilidade dos alimentos (24h) e nem com tempos curtos (48h) para mensurar a indigestibilidade dos alimentos.

Comparando os mesmos modelos, porém para avaliargenótiposdesorgo, Noguera, SalibaeMaurício

(2004) verificaram que os melhores modelos foram o Gompertz e o France. Avaliando diversos modelos sigmóides, Logístico, Gompertz, Richards, Schnute e Stannard para descrever o crescimento bacteriano, Zwietering et al. (1990) concluíram que o melhor modelo foi o Gompertz por conter três parâmetros, necessidade de menor quantidade de mensurações para descrever adequadamente o crescimento das bactérias e, sobretudo, pelos parâmetros apresentarem significado biológico. Além disto, no modelo Gompertz é considerado que a quantidade de substrato satura o meio, todavia, o crescimento microbiano diminui com o passar do tempo, caracterizando uma cinética de primeira ordem (THORNLEY; FRANCE, 2007). Provavelmente, o somatório de todas estas características do modelo

Gompertz é que possibilitou melhor representação da cinética de produção de gases oriunda do material de alta (24 horas) e média (48 horas) taxa de degradação.

Os valores de RQEME e erro residual (Tabela 1) foram iguais ou semelhantes, porque a diferença entre ambos é que no erro residual leva-se em consideração o viés médio, que neste estudo foi de pequena magnitude. Os resultados das incubações *in vitro* por 24 e 48h (Tabelas 1, 2 e 3) não foram comparados estatisticamente porque são biologicamente diferentes, conforme Van Soest (1994) citado na introdução deste artigo. Apesar da diferença biológica, o termo digestibilidade foi usado em ambos os tempos visto ser a denominação padrão nas publicações científicas nacionais.

Os resultados (Tabela 2) não podem ser comparados diretamente com a literatura nacional disponível, visto que na maior parte dos trabalhos os tempos de incubação são, em geral, de 72 a 96 horas e, sobretudo, na maioria dos trabalhos, o modelo de ajuste é diferente. Assim, sugere-se que sejam realizadas incubações por tempos menores ou que as mesmas sejam corrigidas para o tempo de passagem, de modo a avaliar a degradação efetiva dos alimentos que podem incrementar a produção animal, ou seja, as porções de menor degradação “potencial” são importantes para manter a saúde ruminal, mas contribuem pouco para atender as exigências nutricionais de produção, dado o tempo de permanência no rúmen. Para estimar a energia metabolizável de alimentos volumosos e concentrados Getachew et al. (2002) utilizaram incubações *in vitro* por 24 horas, visto que tempos maiores seriam inadequados.

A contínua produção de gases (Tabela 2) demonstra que o ambiente *in vitro* permanece adequado para a fermentação pelos microrganismos ruminais, mas é imprescindível discutir os

demais parâmetros avaliados para compreender os resultados da fermentação. Para o período de incubação de 24 horas, as silagens produzidas no estágio de maturidade completamente leitosa apresentaram menor taxa de produção de gases ( $P<0,05$ ) em relação ao  $\frac{1}{2}$  leitoso  $\frac{1}{2}$  farináceo e, por conseguinte, também menor ( $P<0,05$ ) eficiência de crescimento microbiano. Durante as primeiras 24 horas a eficiência das bactérias é maior, obviamente, em função do alimento apresentar mais nutrientes. Portanto, quanto maior a taxa de degradação, tanto melhor, visto que proporcionará intervalos menores entre refeições, de forma que haverá mais nutrientes no rúmen e, por conseguinte, maior produção animal.

Analisando-se a digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica (Tabela 3) com incubação por 24 horas, verifica-se redução ( $P<0,05$ ) desta variável quando o material permaneceu exposto ao ar antes da ensilagem por 24 e 36 horas, em relação ao tempo zero, sendo que com 12 horas de aeração não diferiu ( $P>0,05$ ) dos demais tratamentos. Todavia, quando a incubação perdurou por 48 horas houve interação entre o estágio de maturidade e o tempo de exposição ao ar antes da ensilagem. Esta interação poderia representar o valor nutricional das silagens somente quando as mesmas fossem ofertadas a animais com exigências nutricionais reduzidas, em que a taxa de passagem dos alimentos é baixa. O AFRC (1993) considera uma taxa de passagem de  $2\%.h^{-1}$  para animais com baixo nível de alimentação aproximando-se ao consumo de uma vez a manutenção, de  $5\%.h^{-1}$  para bezerros, vacas produzindo menos de 15 kg de leite por dia, bovinos de corte e ovinos com consumo menor que duas vezes a manutenção e de  $8\%.h^{-1}$  para vacas leiteiras com produção acima de 15 kg de leite por dia, com consumo superior a duas vezes a manutenção.

**Tabela 2.** Valores estimados pelo modelo Gompertz referente ao ajuste das incubações *in vitro* por 24 e 48 horas, dos materiais originais e das silagens.

Tempo <sup>1</sup>	Material original						Silagens					
	GL <sup>2</sup>		GF <sup>3</sup>		Média		GL <sup>2</sup>		GF <sup>3</sup>		Média	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Volume de gases correspondente a degradação do substrato em 24 ou 48h (mL/g de MS)												
0h	180,4	217,2	188,6	214,7	184,5	216,0	160,1	187,0Aa	179,0	211,1Bb	169,6a	199,0
12h	173,6	212,0	173,2	202,7	173,4	207,4	163,8	191,8Aa	162,1	190,8Aa	163,0a	191,3
24h	182,4	226,9	174,4	208,3	178,4	217,6	151,1	189,4Aa	159,2	189,4Aa	155,2a	189,4
36h	165,8	199,2	163,1	198,4	164,4	198,8	143,6	173,4Aa	168,6	198,9Bb	156,1a	186,2
Média	175,5	218,8	174,8	206,0	175,2	212,4	154,6A	142,0	167,2B	197,6	160,9	169,8
Taxa de produção de gases do material potencialmente degradável em 24 ou 48h (%)												
0h	3,35	2,93	3,11	2,77	3,23	2,85	3,76	3,54	3,12	2,76	3,44a	3,15a
12h	3,28	3,02	3,00	2,66	3,14	2,84	3,71	3,45	3,10	2,77	3,40a	3,11a
24h	3,52	3,18	3,01	2,75	3,26	2,96	3,86	3,46	3,18	2,88	3,52a	3,17a
36h	3,58	3,25	3,08	2,79	3,33	3,02	3,71	3,38	3,44	3,07	3,58a	3,22a
Média	3,43	3,10	3,05	2,74	3,24	2,92	3,76A	3,46A	3,21B	2,87B	3,48	3,16
Eficiência da microbiota ruminal com 24 ou 48h (%)												
0h	13,50	9,88	15,30	11,91	14,40	10,90	11,86	9,42	14,30	10,64	13,08a	10,03a
12h	11,14	8,38	14,55	10,84	12,84	9,61	10,48	8,53	14,04	10,55	12,26a	9,54a
24h	11,52	8,49	12,97	9,72	12,24	9,10	11,43	8,48	12,91	9,77	12,17a	9,12a
36h	11,02	8,48	12,60	9,23	11,81	8,86	11,72	9,10	13,24	10,12	12,48a	9,61a
Média	11,80	8,81	13,85	10,42	12,82	9,62	11,37A	8,88A	13,62B	10,27B	12,50	9,58

1 – Tempo de exposição ao ar antes da ensilagem; 2 – Grão completamente leitoso; 3 – Grão ½ leitoso ½ farináceo; 2 – Grão completamente leitoso; 3 – Grão ½ leitoso ½ farináceo;

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Fonte:** Elaboração dos autores.

Em função do alto investimento necessário para produção de silagem de milho com alto teor de amido (30% da MS) e menor quantidade de fibra em detergente neutro (menos de 45% da MS) a sua utilização torna-se economicamente viável somente em sistemas produtivos cujos animais recebam dietas balanceadas superiores às exigências de manutenção.

O fator de partição (FP) mensura a eficiência de produção da massa microbiana, cuja amplitude vai de 2,74 até 4,41 (MAKKAR, 2004), sendo que a produção de biomassa microbiana por unidade de ATP pode variar de 10 até 32 mg (VAN SOEST, 1994). Porém, neste experimento o FP não coincidiu com a eficiência microbiana estimada pelo modelo Gompertz, de forma que o FP foi superior (P<0,05)

para as silagens do estágio completamente leitoso. Possivelmente, esta superioridade pode ser explicada por diferenças ocorridas na composição da hemicelulose, visto que a colheita das plantas de milho no estágio completamente leitoso foi 22 dias antes do estágio ½ leitoso ½ farináceo. Em similar produção de ATP, proporções maiores de propionato conduzem a maiores FP ao comparar com fermentações que geram mais acetato. Quando o suprimento de carboidratos disponíveis no rúmen aumenta, existe mais energia para induzir a síntese de proteína microbiana e a utilização de amônia. Os microrganismos crescem mais eficientemente quando suas taxas de crescimento são rápidas (menos energia é alocada para manutenção) e o crescimento é limitado mais por energia do que por outros nutrientes.

**Tabela 3.** Digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica e fibra em detergente neutro com as amostras incubadas por 24 e 48 horas e fator de partição, dos materiais originais e das silagens.

Tempo <sup>1</sup>	Material original			Silagens		
	GL <sup>2</sup>	GF <sup>3</sup>	Média	GL <sup>2</sup>	GF <sup>3</sup>	Média
Digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica incubada por 24h (%)						
0h	75,5	76,2	75,9	73,0	71,0	72,0a
12h	71,4	73,3	72,4	68,0	69,3	68,7ab
24h	71,5	68,3	69,9	65,4	66,6	66,0b
36h	69,0	66,0	67,5	61,7	67,9	64,8b
Média	71,9	71,0	71,4	67,0A	68,7A	67,9
Digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica incubada por 48h (%)						
0h	81,4	83,5	82,5	78,9Aa	79,3Aa	79,1
12h	78,1	81,7	79,9	74,9Bb	78,4Aa	76,7
24h	78,7	77,3	78,0	75,4Bb	76,9Aa	76,2
36h	76,4	76,3	76,4	73,9Bb	75,8Bb	74,9
Média	78,7	79,7	79,2	75,8	77,6	76,7
Fator de partição <sup>4</sup>						
0h	3,80	3,96	3,88	4,59	3,77	4,18a
12h	3,95	4,13	4,04	4,34	4,04	4,19a
24h	3,78	3,86	3,82	4,33	4,08	4,20a
36h	4,13	4,01	4,07	4,46	3,90	4,18a
Média	3,92	3,99	3,95	4,43A	3,95B	4,19

1 – Tempo de exposição ao ar antes da ensilagem; 2 – Grão completamente leitoso; 3 – Grão ½ leitoso ½ farináceo; 4 – Determinado com 24 horas de incubação *in vitro*;

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Fonte:** Elaboração dos autores.

## Conclusões

O modelo Gompertz descreve melhor a cinética de produção de gases *in vitro* em silagens de milho.

O modelo France não é adequado para descrever a cinética de produção de gases com tempo menor ou igual a 48 horas de incubação.

A técnica *in vitro* de produção de gases foi eficiente em detectar diferença no valor nutricional de silagens de milho produzidas em diferentes estádios de maturidade.

Incubações *in vitro* por 24 horas não mascaram os efeitos dos tratamentos na ensilagem, enquanto tempos de 48 horas são inadequados para mensurar a digestibilidade da matéria orgânica de silagens de milho.

## Referências

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford, UK: CAB international, 1993. 159 p.
- FRANCE, J.; LOPEZ, S.; KEBREAB, E.; BANNINK, A.; DHANOA, M. S.; DIJKSTRA, J. A general compartmental model for interpreting gas production profiles. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 123-124, n. 1, p. 473-485, 2005.
- GETACHEW, G.; CROVETTO, G. M.; FONDEVILA, M.; KRISHNAMOORTHY, U.; SINGH, B.; SPANGHERO, M.; STEINGASS, H.; ROBINSON, P. H.; KAILAS, M. M. Laboratory variation of 24 h *in vitro* gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. *Animal Feed and Science Technology*, Amsterdam, v. 102, n. 1/4, p. 169-180, 2002.
- MAKKAR, H. P. S. *Recent advances in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources*. Itália: FAO, 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org>>

- org/DOCREP/ARTICLE/AGRIPPA/570\_en\_toc.htm>. Acesso em: 13 set. 2004.
- MAURÍCIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA, K. S.; THEODOROU, M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999.
- MEYER, P. M.; MACHADO, P. M.; COLDEBELLA, A.; CASSOLI, L. D.; RODRIGUES, P. H. M. Validação de modelos de predição de nitrogênio uréico no leite, estimando-se o consumo individual pelo consumo do rebanho. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, v. 28, n. 1, p. 73-79, 2006.
- MORENO, J. A. *Clima do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1961. 41 p.
- NOGUERA, R. R.; SALIBA, E. O.; MAURÍCIO, R. M. Comparación de modelos matemáticos para estimar los parámetros de degradación obtenidos a través de la técnica de producción de gas. *Livestock Research for Rural Development*, Cali, v. 16, n. 11, 2004. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd16/11/nogu16086.htm>>. Acesso em: 19 maio 2008.
- ORSKOV, E. R. Feed evaluation with emphasis on fibrous roughages and fluctuating supply of nutrients: a review. *Small Ruminant Research*, Amsterdam, v. 28, n. 4, p. 1-8, 1998.
- SAMPAIO, I. B. M. Modelos matemáticos na nutrição animal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. *Anais...* Recife: SBZ, 2002. p. 456-466.
- SENGER, C. C. D.; MÜHLBACH, P. R. F.; SANCHEZ, L. M. B.; KOZLOSKI, G. V.; KIST, G. P.; LIMA, L. D. de; NETTO, D. P. Comparação entre os métodos químico, *in situ* e *in vitro* para estimativa do valor nutritivo de silagens de milho. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 835-840, 2007.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS Institute. SAS/STAT. User's guide: statistics, versão 8.1. 4. ed. Cary, 2000. v. 2.
- STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C. do; SCHNEIDER, P. *Solos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: EMATER/RS; UFRGS, 2002. 126 p.
- THEODOROU, M. K.; BARBARA, A. W.; DHANOA, M. S.; McALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 48, n. 3/4, p. 185-197, 1994.
- THORNLEY, J. H. M.; FRANCE, J. *Mathematical models in agriculture: quantitative methods for the plant, animal and ecological sciences*. London: CABI, 2007. 906 p.
- VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.
- VELHO, J. P.; SILVEIRA, V. C. P.; GENRO, T. C. M.; HAYGERT-VELHO, I. M. P.; MAURÍCIO, R. M.; ABDALLA, A. L. Determinação da relação entre pressão e volume para estabelecimento da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases no Laboratório de Nutrição Animal da EMBRAPA Pecuária Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. *Anais...* Santa Maria: SBZ, 2003. CD-ROM.
- ZWIETERING, M. H.; JONGENBURGER, I.; ROMBOUTS, F. M.; RIET, K. van't. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 56, n. 6, p. 1875-1881, 1990.

