

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

**TANINOS CONDENSADOS COMO MODIFICADORES DOS PADRÕES  
FERMENTATIVOS E DIGESTIBILIDADE *IN SITU* DE SILAGEM DE SORGO**

JÉSSICA MARIA DA CONCEIÇÃO DA SILVA RODRIGUES  
Zootecnista

GARANHUNS - PE  
FEVEREIRO - 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

**TANINOS CONDENSADOS COMO MODIFICADORES DOS PADRÕES  
FERMENTATIVOS E DIGESTIBILIDADE *IN SITU* DE SILAGEM DE SORGO**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Área de Concentração: Produção Animal.

**Comitê de Orientação:**

Orientador: Prof. Dr. Evaristo Jorge Oliveira de Souza  
Coorientador: Dr. José Ricardo Coelho da silva

GARANHUNS - PE  
FEVEREIRO - 2020

Dados Internacionais de  
Catalogação na  
Publicação Universidade  
Federal Rural de  
Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R696t

Rodrigues, Jéssica Maria da Conceição da Silva  
TANINOS CONDENSADOS COMO MODIFICADORES DOS PADRÕES  
FERMENTATIVOS E DIGESTIBILIDADE IN SITU DE SILAGEM DE SORGO /  
Jéssica Maria da Conceição da Silva Rodrigues. - 2020.  
99 f.

Orientador: Evaristo Jorge Oliveira de Souza.  
Coorientador: Jose Ricardo Coelho da Silva.  
Inclui referências e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens , Garanhuns, 2020.

1. aditivo. 2. conservação. 3. digestibilidade in situ. 4. estabilidade aeróbica.  
I. Souza, Evaristo Jorge Oliveira de, orient. II. Silva, Jose Ricardo Coelho da, coorient. III.  
Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

**TANINOS CONDENSADOS COMO MODIFICADORES DOS PADRÕES  
FERMENTATIVOS E DIGESTIBILIDADE *IN SITU* DE SILAGEM DE SORGO**

Autor: Jéssica Maria da Conceição da Silva Rodrigues  
Orientador: Prof. Dr. Evaristo Jorge Oliveira de Souza

TITULAÇÃO: Mestre em Ciência Animal e Pastagens

APROVADA: 28/02/2020.

---

**Prof. Dr. Evaristo Jorge Oliveira de Souza – UFRPE/UAG**  
(Orientador)

---

**Daniel Barros Cardoso – D.Sc em Zootecnia**  
(Examinador)

---

**Rayanne Thalita de Almeida Souza - D.Sc. em Zootecnia**  
(Examinador)

*Epígrafe*

Seja forte e corajosa!

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que sempre guiou meus passos e me concedeu o dom da vida ao lado da minha família.

Aos meus pais, dona Creusa e seu José, pelo amor incondicional, dedicação, valores e ensinamentos de vida.

As minhas irmãs Patrícia, Cleia e Jaqueline (Em especial) pelo convívio enriquecedor durante toda a minha vida e por toda torcida de sempre e apoio para o meu sucesso.

À Meu sobrinho, Davi Lucas (Vida) por todo amor, carinho e bagunça.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade Acadêmica de Garanhuns, por ter me recebido como discente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Evaristo Jorge, pelos ensinamentos e confiança durante toda minha trajetória acadêmica, estando comigo desde a graduação.

Ao meu coorientador, Dr. José Ricardo, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho, pela cooperação, disponibilidade e pelos ensinamentos.

Aos membros da banca examinadora, pelas valiosas contribuições a este trabalho.

Aos meus amigos que o PPGCAP me presenteou – Steyce (Mãe), Luiz, Daniel (Gordo), Cleyton (Taradão), Jordânia (Jhor), Raquel, Diego, Marcelo, Claudenilde (Nilde), Yara, Denesson, Pedro e Juliete. Obrigada por tornarem essa caminhada mais leve e divertida. E a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

À todos os professores do Curso de Pós-Graduação, pelas horas dedicadas.

À todos os funcionários da UAG, pelo acolhimento e convívio agradável.

Gratidão!

Levarei comigo cada um na sua essência!

## **BIOGRAFIA**

Jéssica Maria da Conceição da Silva Rodrigues, filha de José Rodrigues da Silva e Creusa Helena da Silva Rodrigues. Nasceu na cidade de Serra Talhada - PE, em 08 de Dezembro de 1992. Estudou o ensino fundamental no colégio Municipal Cônego Torres e o ensino médio na Escola de Referência em Ensino Médio Professor Adauto Carvalho (EREMPAC). Em 2012 ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia na Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE / UAST), com conclusão do curso no ano de 2017. Na oportunidade foi Aluna voluntária do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq/UFRPE) concentrada na área de pesquisa com produção e nutrição de pequenos ruminantes, com ênfase para o Semiárido nordestino. Em Fevereiro de 2018, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens (PPGCAP/ UFRPE / UAG), intensificando seus estudos na área de conservação de forragem, e submetendo-se a defesa pública do trabalho de dissertação para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Pastagens no dia 28 de Fevereiro de 2020.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	9
I. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
1. A cultura do sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) .....	3
2. Processos da ensilagem .....	4
3. Qualidade da silagem.....	6
4. Taninos em Silagens .....	7
4. OBJETIVOS.....	15
4.1. Geral .....	15
4.2. Específicos.....	15

### CAPÍTULO I

1. Introdução .....	5
2. Material e métodos .....	6
3. Resultados.....	21
4. Discussão .....	1
5. Conclusão .....	7
Referências .....	7
II. ANEXO .....	33

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Fracionamento dos taninos condensados da silagem conforme os tratamentos	7
Tabela 2. Composição bromatológica, e capacidade tampão do sorgo antes da ensilagem.....	8
Tabela 3. Perdas e perfil fermentativos de silagem de sorgo com diferentes níveis de inclusão tanino.....	1
Tabela 4. Composição bromatológica de silagem de sorgo com diferentes níveis de inclusão de tanino.....	22
Tabela 5. Fracionamento dos compostos nitrogenados e dos carboidratos de silagem de sorgo com diferentes níveis de tanino.....	23
Tabela 6. Composição química e estabilidade aeróbica de silagem sorgo com níveis de tanino em diferentes dias de exposição ao ar.....	24
Tabela 7. Digestibilidade efetiva e potencial da matéria seca, proteína bruta e fibra insolúvel em detergente neutro de silagem de sorgo com diferentes níveis de tanino....	26

## **ANEXO II**

Dados brutos .....	1
Normas do artigo para submissão.....	33

## I. INTRODUÇÃO GERAL

A região do Semiárido apresenta uma sazonalidade climática marcante, interferindo na disponibilidade de oferta das plantas forrageiras tropicais ao longo do ano, comprometendo a produção animal. Diante disso, a produtividade animal necessita de técnicas para atenuar esse efeito, como a produção de silagem, impulsionando a produção de volumoso das áreas destinadas ao cultivo dessas forrageiras, visando em uma fonte de alimento durante os períodos de estiagem (MOREIRA FILHO et al., 2010).

A silagem é uma alternativa usada em sistemas de produção para armazenamento de forragens, mantendo seu valor nutritivo. A preservação desse material através dessa técnica é obtida por meio anaeróbico favorecendo ao desenvolvimento de microrganismos, consequentemente, reduzindo o pH e impedindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (COBLENTZ & AKINS, et al., 2018).

O processo fermentativo da silagem pode acarretar em perdas de matéria seca e nutrientes, perdas essas, que se dá através da produção de efluentes ou gases. Implicando assim, na qualidade final dessa silagem (MOTA et al., 2011). O uso do sorgo para ensilagem é favorecido por essa cultura ter elevada expressão do seu rendimento de massa de forragem e apresentar características que favorecem a fermentação desejável, como adequados teores de carboidratos solúveis, baixa capacidade tampão e teor de matéria seca acima de 25% (FERNANDES et al., 2010).

Diante dessas perdas de nutrientes, tem-se a necessidade da utilização de aditivos que favoreçam sua diminuição destas perdas, como também estimulem fermentações ideais e agregue ao produto final, diminuindo esses riscos durante o processo, e aumentando a estabilidade aeróbica da silagem (KRISTENSEN et al., 2010 ; TABACCO et al., 2011). O aditivo deve promover um ambiente adequado para que ocorra o desenvolvimentos dos microrganismos desejáveis, que utilizam apenas açúcares como fonte de substrato de crescimento, provocando assim, a inibição de fermentações secundárias.

A inclusão de aditivos pode melhorar a preservação, aumentando o valor nutricional da silagem e consequentemente produzindo uma fonte de volumoso mais digestível (THOMAS et., 2013).

O tanino condensado como aditivo na silagem seria uma estratégia utilizada para manipular o processo fermentativo, prevenindo as perdas de nutrientes e tornando a degradação das proteínas dificultada, devido à ação que esses compostos possuem em se ligar às proteínas, o que depende em grande parte, da estrutura e do peso molecular dos taninos presente na silagem (JAYANEGARA et al., 2019).

Contudo, pesquisas mostrando os efeitos da utilização dos aditivos na conservação de forragem, são cada vez mais pertinentes, trazendo resultados sobre as mudanças dos padrões do perfil fermentativo das silagens, bem como as vantagens que são promovidas por estes compostos. Objetivou-se avaliar o efeito do tanino como modificador dos padrões fermentativos de silagem de sorgo.

## II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. A cultura do sorgo (*Sorghum bicolor (L.) Moench*)

O sorgo é uma gramínea pertencente à família Poaceae, gênero *Sorghum* e a espécie *Sorghum bicolor (L.) Moench*, de origem Africana, entretanto autores advertem que pode haver duas regiões de dispersão como, a África e a Índia (BUSO, 2011).

A espécie destaca-se por ser mais flexível quanto as épocas de plantio e a sua alta produtividade, constituindo-se como uma alternativa de forragem para aumentar a produção animal, essencialmente durante as épocas de falta de alimento (MORRILL et al., 2012).

O sorgo é uma cultura anual e vem sendo utilizada como alternativa ao milho em regiões onde os períodos das chuvas são limitados para o cultivo do milho. Contudo, essa cultura é geralmente mais usada no processo de ensilagem (SAMARAPPULI & BERTI, 2018). Quando comparado com o milho, o sorgo apresenta vantagens como maior eficiência na utilização da água, capacidade de tolerar o estresse causado pela temperatura e baixos custos com semeadura (BEAN & MARSALIS, 2012). Como evoluíram primariamente nos trópicos, são espécies adaptadas a altas intensidades luminosas, altas temperaturas e seca (RAVEN et al., 2014).

O sorgo possui capacidade de conservar o sistema radicular, proporcionando uma nova rebrota que pode produzir de 40 a 60 % da produção de forragem do primeiro corte. Com isso, apresenta uma característica vantajosa que é a capacidade de rebrota da cultura (ALVARENGA et al., 2015).

Apresenta metabolismo C4, caracterizadas pela alta eficiência fotossintética, resultando em maior produção de matéria seca (LI et al., 2010). As plantas com esse tipo de metabolismo, como o sorgo forrageiro, têm uma estrutura conhecida por "anatomia Kranz", a qual se caracteriza por feixe vascular circundado pela bainha vascular, que por sua vez é circundado por células especializadas ligadas ao tecido esclerenquimático e epiderme, o que confere menor espaço intercelular. A alta concentração de CO<sub>2</sub> e baixa de O<sub>2</sub> no sítio de atividade da rubisco limitam a fotorrespiração que aumenta a vantagem competitiva destas plantas em relação às C3 (RAVEN et al., 2014).

Além da produtividade, o sorgo apresenta atributos que favorecem o processo de ensilagem, tais como o fácil cultivo, colheita e armazenamento. De acordo com Borges (2016), a gramínea pode produzir entre 40 a 55 t.ha<sup>-1</sup> ano de massa verde. Além disso,

Rezende et al. (2015) destacam o alto teor de carboidratos solúveis, sendo este, um dos fatores primordiais, para que ocorra a correta fermentação da silagem. Em estudos realizados com a cultura do sorgo, mostraram teores de carboidrato entre 12 e 20% e teores de matéria seca de 24 a 43% (THOMAS et al., 2013; MACHADO et al., 2014).

## **2. Processos da ensilagem**

A silagem é datada desde 1842, cuja autoria é de Grieswald (McDONALD, 1991). Após este marco histórico até os dias atuais, a silagem e seu processo de elaboração vêm sendo amplamente estudados, conferindo avanços tecnológicos no uso de aditivos, diminuição de perdas fermentativas e melhorias no perfil de fermentação, possibilitando melhor eficiência produtiva (SILVA et al., 2009; SANTOS et al., 2018).

A técnica de ensilagem tem por objetivo realizar a conservação do alimento, o que compreende o armazenamento da forragem em condições de anaerobiose, permitindo o desenvolvimento, principalmente de bactérias produtoras de ácido lático, utilizando substratos como, açúcares solúveis em especial os mono e dissacarídeos, ácidos orgânicos e compostos nitrogenados solúveis (GRANT & FERRARETTO, 2018).

A conservação de alimentos apresenta-se como ferramenta capaz de atenuar o efeito da escassez de pastagens para a produção animal. Assim, a conservação de forragem na forma de silagem proporciona a otimização das áreas destinadas ao cultivo de forrageiras, possibilitando a conservação de grandes quantidades de forragem por unidade de área, de forma rápida e eficiente (SILVA et al., 2011; GRANT & ADESOGAN, 2018). Atualmente diversos avanços tecnológicos encontram-se à disposição dos pecuaristas, sejam eles no perfil nutricional, rendimento produtivo e técnicas que otimizem a ensilagem de diferentes forragens (FERRARETTO et al., 2018).

Como fonte primária de volumoso, a silagem representa 67,7% das escolhas dos nutricionistas de animais ruminantes (MILLEN et al., 2009). Dentre as forrageiras que se encontram em destaque no Semiárido para produção de silagens, estão os capins tropicais (NEUMANN et al., 2005), milho (SILVA et al., 2015; CALIXTO JUNIOR et al., 2017), sorgo (SILVA ELIAS et al., 2017) e milheto (PINHO et al., 2013).

O processo da produção de silagem é dividido em quatro fases importantes, de diferentes durações e intensidades. A fase aeróbica inicial (logo em seguida após a colheita da planta), o término dessa fase é caracterizado pela exaustão do oxigênio no interior do silo. A fase de fermentação (essa fase se prolonga até que o pH seja reduzido

o suficiente para inibir o crescimento das BAL). Iniciando-se a fase de estabilização, e a fase final (WILKINSON & DAVIES, 2013).

Para a otimização e o sucesso do processo de ensilagem, necessita-se que ocorra o crescimento das bactérias ácido lácticas essenciais para a fermentação inicial da massa ensilada, as quais são prejudicadas pela temperatura, e outros parâmetros como, disponibilidade de açúcares solúveis, meio anaeróbico e teor de umidade da forragem. Essas bactérias crescem mais rapidamente a temperaturas entre 27 e 38°C abaixo disso, seu desenvolvimento é interferido (YAMAMOTO et al., 2011).

Forrageiras com baixa concentração de carboidratos solúveis tendem a apresentar silagens com pH mais elevado e menor produção de ácido láctico. A alta concentração de carboidratos solúveis em forrageiras, por sua vez, pode resultar em maior proliferação de leveduras epífitas que convertem açúcares em etanol, CO<sub>2</sub> e água ocasionando perdas fermentativas consideráveis, tanto da matéria seca quanto de outros nutrientes da planta (CHIZZOTTI et al., 2015).

Diversos fatores influenciam cada fase do processo fermentativo de uma silagem, dentre eles o conteúdo de matéria seca, concentração de carboidratos solúveis, capacidade tampão e população de microrganismos. Condições essas que possibilitam o sucesso ou a limitação do material a ser ensilado (SANTOS et al., 2010).

Forrageiras que apresentam teor de MS mais elevado na fase de colheita e maiores tamanhos de partícula resultam em má compactação devido à dificuldade de agregação de partículas. Tomichi et al. (2003), constataram que, forragens com mais de 60% de MS, geralmente não proporcionam uma boa compactação. Implicando em maior deterioração do valor nutritivo da forragem, devido à maior taxa de respiração (MUCK, 2010).

O conteúdo de matéria seca da forrageira é um dos principais fatores determinantes, influenciando em perdas no processo de ensilagem. Para que ocorra uma boa fermentação é necessário que a forragem apresente teores de MS entre de 28 e 35% (McDONALD et al., 1991). Considerado fator limitante, pois níveis abaixo dos preconizados para uma silagem, favorecem a fermentação indesejada como formação de ácido butírico e produção de efluentes (SCHOCKEN-ITURRINO et al., 2005).

A técnica de ensilagem do sorgo promove perdas de matéria seca que varia entre 1,3 à 32%. Isso demonstra que essa cultura necessita de alternativas técnicas para promover diminuição destas perdas. Geralmente, associam-se essas perdas à ação da água de metabolismo, teor de matéria seca da cultura ensilada e procedimento físico de

corte e aplicação de aditivos na forragem ensilada, podendo alterar o valor nutricional das silagens (ITAVO et al., 2010).

### **3. Qualidade da silagem**

O princípio básico para se obter uma silagem de alta qualidade é utilizar uma forrageira de bom valor nutritivo e empregar tecnologias adequadas em todas as fases do processo de ensilagem.

O potencial hidrogênionico e a temperatura estão relacionados com o teor de matéria seca da planta e o teor de nitrogênio amoniacal, são parâmetros que resultam na qualidade de fermentação das silagens (SANTOS et al., 2010).

É possível afirmar que o incorreto processo de vedação no momento da confecção de silagens, pode levar à ação das enterobactérias e fermentação heterolática, embora ocasione maiores perdas na fase anaeróbica no silo, o aumento da concentração de ácido acético é fator altamente determinante na redução da atividade de leveduras e fungos na fase de abertura do silo (WEISS et al., 2016).

Após o processo de corte da forragem, dá-se início a processos bioquímicos oxidativos como a proteólise, o que favorece o aumento nos níveis de nitrogênio não proteico (NNP), aproximadamente 40% do nitrogênio total, nas 24 horas iniciais da ensilagem o conteúdo pode atingir cerca de 70% na abertura do silo (MCDONALD, 1991).

O nitrogênio amoniacal que é produzido durante a fermentação é derivado do metabolismo de aminoácidos, e este impede a redução do pH, servindo como indicativo de fermentação indesejável. Segundo MCDONALD et al. (1991) silagens bem conservadas não devem apresentar valores de  $\text{NH}_3$  que ultrapassem 10% do nitrogênio total.

A capacidade tampão corresponde a habilidade da massa de forragem ao abaixamento do pH. Essa capacidade tampão depende basicamente da composição química da planta no que se refere ao teor de proteína bruta, íons inorgânicos (Ca, K e Na) e presença de ácidos orgânicos como fosfórico, málico, cítrico, glicérico e outros (COAN et al., 2007).

O teor de carboidratos solúveis nas forrageiras é variável e depende de diversos pontos inerentes às plantas, clima e solos. A maior parte das gramíneas tropicais apresenta baixos teores de carboidratos solúveis, menos de 5% (CARVALHO et al.,

2008). Enquanto algumas forrageiras como a cana de açúcar e o sorgo forrageiro possuem elevados teores de açúcares (RIBEIRO et al., 2010).

Como mencionado, esse processo pode ocasionar perdas de matéria seca e nutrientes, devido às indesejáveis fermentações que possam ocorrer. Neste sentido, a inclusão de aditivos ao processo de ensilagem tem como intuito reduzir riscos, prevenindo que aconteçam as fermentações secundárias, elevando o valor nutritivo e melhorando a estabilidade aeróbia da silagem produzida (COSTA et al., 2008).

#### **4. Taninos em Silagens**

Os taninos podem ser divididos em hidrolisáveis, que após a hidrólise produzem carboidratos e ácidos fenólicos; e os condensados que é resistente a hidrólise. Os taninos possuem elevado peso molecular, sendo encontrados tanto nas espécies de gimnospermas quanto nas angiospermas, apresentando comumente, maior presença nas espécies de dicotiledôneas (BATTESTIN et al., 2004).

Os taninos condensados constituem o grupo mais comum nas plantas; são armazenados nas células vegetais onde podem-se encontrar “livres” ou ligados à proteína e/ou à fibra. Estes se ligam as proteínas e outras estruturas através de pontes de hidrogênio, que podem ser reversíveis, a depender de fatores como pH, estruturas e pesos moleculares dos taninos e proteínas (MUELLER-HARVEY, 2006). São polímeros de unidades de flavano-3-ol ligados entre si por ligações carbono-carbono (C4-C8). Têm geralmente maior peso molecular que os taninos hidrolisáveis (SINCLAIR et al., 2009).

Os taninos podem apresentar de 2 a 40% da matéria seca da casca de várias espécies, dentre as espécies mais usadas na exploração, destacam-se o quebracho (*Schinopsis* sp.) que contém até 25% da matéria seca em taninos e a acácia negra (*Acacia mollissima* e *Acacia mearnsii*) cultivada em regiões do Rio Grande do Sul e apresenta cerca de 28% (PAES et al., 2006).

O complexo tanino-proteína é altamente dependente do pH, esta reação é influenciada pelo pH próximo à neutralidade diminuindo sua degradabilidade e disponibilidade, enquanto que em pH inferior a 3,5 ocorre a dissociação e liberação da proteína podendo tornar a proteína livre disponível (MAKKAR, 2003).

O tratamento de silagens com compostos químicos como o formaldeído tem sido utilizado com o intuito de reduzir a degradação da proteína no silo, sendo esses aditivos

bastante comuns nas silagens. Os taninos, tal como o formaldeído, têm a capacidade de formar ligações com as proteínas.

A utilização de taninos na massa de forragem ensilada diminui o processo de quebra das proteínas (proteólise), reduzindo a formação de nitrogênio amoniacal nas silagens (GONÇALVES et al., 1999). Dentre as estratégias para manipular a fermentação da silagem, o uso de aditivos se apresenta como uma técnica capaz de interferir no processo de fermentação da forragem, a fim de minimizar as perdas fermentativas.

Tabacco et al. (2006), verificou o efeito da inclusão de taninos nas características fermentativas da silagem e observou que resultou em menores perdas de matéria seca em função dos menores teores de amônia, porém não observou-se alterações no perfil de ácidos orgânicos produzidos pela fermentação. Além disso, a utilização de taninos mostrou-se capaz de diminuir a digestibilidade da matéria orgânica da silagem pela sua função de se complexar com as proteínas.

## LITERATURA CITADA

ALVARENGA, R. C.; ALBUQUERQUE FILHO, M. R. Manejo do solo e sistema plantio direto. Sorgo: Coleção 500 perguntas 500 respostas. Brasília – DF, p. 63 - 80.

AMORIM, S.L. et al. Intoxicações por plantas cianogênicas no Brasil. **Ciência Animal**, v.16, n.1, p.17-26, 2015.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.15, n.1, p.63-72, 2004.

BEAN, B.; MARSALIS, M. Corn and sorghum silage production considerations. In: **High Plains Dairy Conference. Amarillo, TX, EEUU: A&M AgriLife Research and Extension**. 2012.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C. A. M.; MÜLLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. Distribuição hídrica no

período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 831-839, 2006.

BORGES, R. F. Importância da ensilagem de Sorgo. Trabalho de conclusão de curso Técnico - Universidade Estadual de Goiás. Posse, GO, 18f, 2016.

BUSO, W. H. D. Utilização do sorgo forrageiro na alimentação animal. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 23, Ed. 170, Art. 1145, 2011.

CALIXTO JUNIOR, M.; JOBIM, C. C.; OSMARI, M. P.; TRES, T. T. Nutritional additives in high moisture corn silage. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.12, n.1, p.105-111, 2017.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V. Características fermentativas de silagens de capim-elefante emurchedido ou com adição de farelo de cacau. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.234-242, 2008.

CHIZZOTTI, F. H. M.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; CHIZZOTTI, M. L.; RODRIGUES, R. T. S.; TEDESCHI, L. O.; SILVA, T. C. Does sugar cane ensiled with calcium oxide affect intake, digestibility, performance, and microbial efficiency in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.203, n.3, p.23-32, 2015.

COAN, R. M.; REIS, R. A.; GARCIA, G. R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; FERREIRA, D. D. S.; RESENDE, F. D. D.; GURGEL, F. D. A. Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins tanzânia e marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1502-1511, 2007.

COBLENTZ W. K; AKINS M. S. Silage review: Recent advances and future technologies for baled silages. **Journal of Dairy Science**. 1; 101, 5, 4075-92, 2018.

COSTA, C. T. C; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; VIEIRA, L. S. Taninos e sua utilização em pequenos ruminantes. In Botucatu, v.10, n.4, p.108-116, 2008.

FERNANDES, F. E. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; PEREIRA, O.G.; GIORDANO, P. C. G.; OLIVINDO, C. S. Silage forage sorghum with addition of urea in two storage periods. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 38, 11, 2111-2115, 2010.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.5, p.3937-3951, 2018.

GRANT, R. J.; ADESOGAN, A. T. Silage Special Issue: Introduction. **Journal Of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3935-3936, 2018.

GRANT, R. J.; FERRARETTO, L. F. Silage review: Silage feeding management: Silage characteristics and dairy cow feeding behavior. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 5, p. 4111-4121, 2018.

HUISDEN, C. M., ADESOGAN, A. T., KIM, S. C.; OSOSANYA, T. Effect of applying molasses or inoculants containing homofermentative or heterofermentative bacteria at two rates on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.2, p.690-697, 2009.

ITAVO, L. C. V.; ITAVO, C. C. B. F.; MORAIS, M. G. Composição química e parâmetros fermentativos de silagens de capim elefante e cana de açúcar tratadas com aditivos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 3, p. 606-617, 2010.

JAYANEGARA, SUJARNOKO, T. U., RIDLA, M., KONDO, M.; KREUZER, M. Silage quality as influenced by concentration and type of tannins present in the material ensiled: A meta-analysis. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 103, 2, 456-465, 2019.

KRISTENSEN N. B.; SLOTH K. H.; SPLIID N. H.; JENSEN C.; THAGERSEN R. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial content, aerobic stability and milk production in field conditions. **Journal of Dairy Science**.93, 3764 – 3774, 2010.

LI, R.; ZHANG, H.; ZHOU, X.; GUAN, Y.; YAO, F.; SONG, G.; ZHANG, C. Genetic diversity in Chinese sorghum landraces revealed by chloroplast simple sequence repeats. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 57, n. 1, p. 1-15, 2010.

MACHADO, F. S.; RODRÍGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; RIBAS, M. N.; LOBATO, F. C. L.; VEIGA, I. R. F. M. GUIMARÃES JUNIOR, R.; PEREIRA, L. G. R. Valor nutricional de híbridos de sorgo em diferentes

estádios de maturação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.1, p.244-252, 2014.

MAKKAR, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, n.3, p.241–256. 2003.

MCDONALD, P; HERDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. The biochemistry of silage. 2 a Ed. Malow: Chalcombe Publications, p. 167-249, 1991.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; GALYEAN, M. L. VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, Columbia, v.87, n.10, p.3427-3439, 2009.

MOREIRA FILHO, M. A.; CERQUEIRA NETO, C. F.; SILVA, D. C.; RODRIGUES, M. M.; ALVES, A. A.; VALE, G. E. S. e CAVALCANTE A. F. Consumo e Digestibilidade da Silagem de Capim-Elefante com Adição de Vagens de Bordão-de-Velho. **Revista Cientifica de Produção Animal**. v.12, n.2, p.180-183, 2010.

MORRILL, W. B.; ROLIM, M. M.; NETO, E. B.; PEDROSA, E. M.; OLIVEIRA, V. S.; ALMEIDA, G. L. Produção e nutrientes minerais de milheto forrageiro e sorgo sudão adubado com soro de leite. **Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental-Agriambi**, v.16, n.2, 2012.

MOTA, Á. D. S.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; SOUZA, A. S. D.; REIS, S. T. D.; TOMICH, T. R.; CALDEIRA, L. A.; COSTA, M. D. D. Fermentation profile and losses in the ensilage of different fractions of the aerial part from four cassava varieties. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.7, p.1466-1473, 2011.

MUCK, R. E. Microbiologia da silagem e seu controle com aditivos. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, p.183-191, 2010.

MUELLER-HARVEY I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, n.13, p. 2010-37. 2006.

NEUMANN, M.; RESTLE, J.; BRONDANI, I.L.; NORNBERG, J.L.; MELLO, R.O.; SOUZA, A.N.M.; PELLEGRINI, L.G. Efeito do tamanho da partícula e do tipo

de silo sobre o valor nutritivo da silagem de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 2, p. 224-242, 2005.

PAES, J. B.; MARINHO, I. V.; LIMA, R. A.; LIMA, C. R.; AZEVEDO, T. K. B. Viabilidade técnica dos taninos de quatro espécies florestais de ocorrência no Semiárido brasileiro no curtimento de peles. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 4, p. 453-462, 2006.

PINHO, R. M. A.; SANTOS, E. M.; RODRIGUES, J. A. S.; MACEDO, C. H. O.; CAMPOS, F. S.; RAMOS, J. P. D. F.; PEZARRO, A. F. Use of cactus feeding as new technology in sheep fattening. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 3, 2013.

RAVEN, P. H.; EVERET, R. F.; EICHHORN, S. E. Biologia Vegetal. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 8 ed, 2014.

REZENDE, G. M., PIRES, D. A. D. A., BOTELHO, P. R. F., JÚNIOR, V. R. R., SALES, E. C. J., JAYME, D. G., ... & MOREIRA, P. R. Características agronômicas de cinco genótipos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], cultivados no inverno, para a produção de silagem. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.10, n.2, p.171-179, 2011.

SAMARAPPULI, D.; BERTI, M. T. Intercropping forage sorghum with maize is a promising alternative to maize silage for biogas production. **Journal of Cleaner Production**, v. 194, p. 515-524, 2018.

SANTOS, A. P. M. D.; SANTOS, E. M.; OLIVEIRA, J. S. D.; RIBEIRO, O. L.; PERAZZO, A. F.; PINHO, R. M. A.; PEREIRA, G. A. Effects of urea addition on the fermentation of sorghum (*Sorghum bicolor*) silage. **African Journal of Range & Forage Science**, v. 35, n. 1, p. 55-62, 2018.

SANTOS, M. V. F.; CASTRO, A. G. G.; PEREA, J. M.; GARCÍA, A.; GUIM, A.; HERNÁNDEZ, M. P. Fatores que afetam o valor nutritivo das silagens de forrageiras tropicais. **Archivos de Zootecnia**. 59, 25-43, 2010.

SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; REIS, R. A.; COAN, R. M.; BERNARDES, T. F.; PANIZZI, R. D. C.; POIATTI, M. L.; PEDREIRA, M. D. S. Alterações químicas e microbiológicas nas silagens de capim-Tifton 85 após a abertura dos silos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.464-471, 2005.

SILVA ELIAS, O. F. A.; LEITE, M. L. D. M. V.; AZEVEDO, J. M.; SOUZA, J. P. S.; NASCIMENTO, G. F; SIMPLICIO, J. B. Características agronômicas de

cultivares de sorgo em sistema de plantio direto no semiárido de Pernambuco. **Revista Ciência Agrícola**, v.14, n.1, p.29-36, 2017.

SILVA, E. J. A.; BORGATTI, L. M. O.; MEYER, P. M.; RODRIGUES, P. H. M. Efeitos da aeração sobre as características da silagem de cana-de-açúcar. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.31, n.2, p.247-253, 2009.

SILVA, T. G. F.; PRIMO, J. T. A.; MORAIS, J. E. F.; DINIZ, W. J. S.; SOUZA, C. A. A.; CONCEIÇÃO SILVA, M. Crescimento e produtividade de clones de palma forrageira no semiárido e relações com variáveis meteorológicas. **Revista Caatinga**, v.28, n.2, p.10-18, 2015

SINCLAIR, L. A. HART, K. J., WILKINSON, R. G.; HUNTINGTON, J. A.. Effects of inclusion of whole-crop pea silages differing in their tannin content on the performance of dairy cows fed high or low protein concentrates. **Livestock science**, v. 124, n.1-3, p.306-313, 2009.

TABACCO, E.; BORREANI, G.; CROVETTO, G. M.; GALASSI, G.; COLOMBO, D.; CAVALLARIN, L. Effect of chestnut tannin on fermentation quality, proteolysis, and protein rumen degradability of alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.12, p.4736-4746, 2006.

THOMAS, M. E.; FOSTER, J. L.; McCUISTION, K. C.; REDMON, L. A.; JESSUP, R. W. Nutritive value, fermentation characteristics, and *in situ* disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.11, p.7120-7131, 2013.

TOMICH, T. R.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; TOMICH, R. G. P.; BORGES, I. Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação. Corumbá: Embrapa Pantanal. p.20, 2003.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. **Ithaca: Cornell University Press**. 2. ed. p.476. 1994.

WEINBERG, Z. G.; CHEN, Y.; SOLOMON, R. The quality of commercial wheat silages in Israel. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.2, p.638-644, 2009.

WEISS, K.; KROSCHIEWSKI, B.; AUERBACH, H. Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability

and volatile organic compounds in corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.99, n.10, p.8053-8069, 2016.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1-19, 2013.

YAMAMOTO, Y.; GAUDU, P.; GRUSS, A. Oxidative stress and oxygen metabolism in lactic acid bacteria. **Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria: Current Progress in Advanced Research**, p.91-102, 2011.

ZANINE, A. M.; SANTOS, E. D.; FERREIRA, D. J.; OLIVEIRA, J. S.; PEREIRA, O. G. Avaliação da silagem de capim-elefante com adição de farelo de trigo. **Archivos de Zootecnia**, v. 55, n. 209, p.75-84, 2006A.

ZOPOLLATTO, M.; PRATTI DANIEL, J. L.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.170-189, 2009.

## **4. OBJETIVOS**

### ***4.1. Geral***

Avaliar o efeito dos taninos condensados como modificadores dos padrões fermentativos e digestibilidade *in situ* de silagem de sorgo.

### ***4.2. Específicos***

- Verificar o efeito da inclusão de tanino nas perdas e padrões fermentativos da silagem de sorgo.
- Analisar a composição bromatológica da silagem e estabilidade aeróbica em diferentes dias de exposição ao ar com a inclusão do tanino.
- Estimar o fracionamento dos compostos nitrogenados e dos carboidratos da silagem com diferentes níveis de inclusão de tanino.
- Avaliar a digestibilidade *in situ* da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro da silagem de sorgo com inclusão do tanino.

1

## CAPÍTULO I

2

3

4

### TANINOS CONDENSADOS PARA PROMOVER MELHORAS NOS PADRÕES FERMENTATIVOS E DIGESTIBILIDADE *IN SITU* DE SILAGEM DE SORGO

(Normas da revista *Animal Feed Science and Technology*)

8

9

#### 10 HIGHLIGHTS

11

- 12 • Taninos condensados melhoram o perfil fermentativo de silagem de sorgo;
- 13 • A produção de ácidos orgânicos aumenta com a inclusão de taninos condensados  
14 em silagem de sorgo;
- 15 • Taninos condensados promovem aumento na produção de ácido lático em  
16 silagem de sorgo;
- 17 • A digestibilidade *in situ* da proteína bruta e da fibra em detergente neutro  
18 aumentam com inclusão de taninos condensados na silagem;

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

**RESUMO**

O aditivo deve proporcionar ambiente ideal para a fermentação adequada, impedindo o crescimento de microrganismos indesejáveis, como as leveduras. Os taninos evitam ou desaceleram a degradação de proteínas nas silagens e aumentam a estabilidade aeróbica. Objetivou-se verificar os efeitos de taninos condensados nos padrões fermentativos, composição bromatológica, estabilidade aeróbica e digestibilidade *in situ* de silagem de sorgo. Foi avaliada a planta do sorgo forrageiro, variedade IPA 467-4-2, e os silos foram confeccionados através de tubos de PVC com 10 cm de diâmetro e 50 cm de comprimento. Após a colheita da forragem, foi utilizado tanino comercial, o qual foi adicionado manualmente e homogeneizado antes do processo de ensilagem. Foram divididos em três experimentos ao total, os quais foram utilizados o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos representados pelo diferentes níveis de tanino (0; 7,5; 15; 22,5 e 30 g/kg na MN) com cinco repetições cada, totalizando 25 silos experimentais. O experimento 1, 2 e 3 foi conduzido na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST). Para o experimento 2 da estabilidade aeróbia, que foi conduzido no laboratório de nutrição animal, foram confeccionados 125 sistemas de garrafas PET com amostra de 200g da silagem. A silagem foi exposta ao ar em um sistema, usado para determinação de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) que foi avaliado nos 1, 3, 6, 9 e 12 dias de exposição, com 5 tratamentos (Parcelas principais) e 5 dias de exposição (subparcelas). Foi determinada a composição químico-bromatológica da silagem em cada tratamento de exposição ao ar, às estimativas de perdas na silagem, os fracionamentos dos compostos nitrogenados e dos carboidratos e a quantificação de CO<sub>2</sub>. Houve diferença ( $P<0,05$ ) para as perdas e perfil fermentativo com a inclusão de tanino na silagem de sorgo. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) para os fracionamentos de carboidratos e

57 proteínas. Para a composição bromatológica da silagem exposta ao ar e a estabilidade  
58 aeróbica em diferentes dias de exposição, apresentaram efeito significativo ( $P<0,05$ ).  
59 Em relação aos parâmetros da digestibilidade potencial e efetiva para proteína e fibra  
60 em detergente neutro nas diferentes taxas de passagem da silagem de sorgo foi  
61 observado efeito significativo ( $P>0,05$ ) com a inclusão do tanino. Entretanto, para a  
62 matéria seca (MS) não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ). Recomenda-se a inclusão de  
63 30 g/kg MN do tanino como aditivo na ensilagem de sorgo para promover aumento dos  
64 ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático, proporcionando maior estabilidade  
65 aeróbica e menores perdas de nutrientes, como também, melhorando a digestibilidade *in*  
66 *situ* da PB e da FDN da silagem.

67

68 **Palavras-chaves:** aditivo, ácido lático, conservação, estabilidade aeróbica.

69

## 70 ABSTRACT

71 Additive should provide an ideal environment for adequate fermentation, preventing the  
72 growth of undesirable microorganisms, such as yeasts. Tannins prevent or slow down  
73 protein degradation in silages and increase aerobic stability. The objective was to check  
74 the effects of condensed tannins on fermentation patterns, chemical composition,  
75 aerobic stability and *in situ* digestibility of sorghum silage. Forage sorghum, variety  
76 IPA 467-4-2, was evaluated; the silos were made of PVC tubes with 10 cm in diameter  
77 and 50 cm in length. After harvesting the forage, commercial tannin was added  
78 manually and homogenized before ensiling. There were three experiments, in a  
79 completely randomized design, with five treatments represented by different levels of  
80 tannin (0; 7.5; 15; 22.5 and 30 g/kg in MN) with five repetitions each, totaling 25  
81 experimental silos. Experiments 1, 2 and 3 were conducted at the Federal Rural

82 University of Pernambuco (UFRPE), Serra Talhada Academic Unit (UAST). For  
83 experiment 2, on aerobic stability, conducted in the animal nutrition laboratory, 125  
84 systems of PET bottles were made with a sample of 200g silage. The silage was  
85 exposed to air in a system, used to determine carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), which was  
86 evaluated on 1, 3, 6, 9 and 12 days of exposure, with 5 treatments (main plots) and 5  
87 days of exposure (subplots). Analyses were made for chemical composition of the silage  
88 in each treatment of exposure to air, estimates of losses in the silage, the fractionation of  
89 nitrogen compounds and carbohydrates and the quantification of CO<sub>2</sub>. There was a  
90 difference ( $P<0.05$ ) for losses and fermentation profile with the inclusion of tannin in  
91 sorghum silage. There was no difference ( $P>0.05$ ) for the fractionation of carbohydrates  
92 and proteins. For chemical composition of the silage exposed to air and aerobic stability  
93 on different days of exposure, they showed a significant effect ( $P <0.05$ ). Regarding the  
94 parameters of potential and effective digestibility for CP and NDF at different rates of  
95 passage of sorghum silage, there was a significant effect ( $P>0.05$ ) with the inclusion of  
96 tannin. However, for dry matter (DM) there was no significant effect ( $P>0.05$ ). It is  
97 recommended to include 30 g/kg MN of tannin as an additive in sorghum silage to  
98 promote an increase in short-chain fatty acids, especially lactic acid, providing greater  
99 aerobic stability and less loss of nutrients, as well as improving in situ digestibility of  
100 silage CP and NDF.

101

102 **Keywords:** additive, lactic acid, conservation, aerobic stability.

103

104

105

106

107 **1. Introdução**

108

109 Buscando favorecer bons padrões fermentativos e nutricionais, é necessário  
110 conhecer os fatores que alteram a dinâmica fermentativa e as perdas dos nutrientes que  
111 ocorrem durante o processo de ensilagem. Então, a utilização de aditivos como taninos  
112 podem promover uma melhor fermentação do material ensilado (Borreani et al., 2018).

113 Alguns compostos secundários como os taninos têm ação em proteger as  
114 proteínas da degradação microbiana. A afinidade entre taninos e proteínas é devido à  
115 presença de múltiplos grupos hidroxila fenólicos nos taninos, tendo mais facilidade de  
116 estabelecer ligações com as proteínas. A natureza e a estabilidade dessas ligações são  
117 alteradas pelo peso molecular, estrutura terciária, ponto isoelétrico e compatibilidade  
118 dos locais de ligação (He et al., 2020).

119 Os taninos podem influenciar na diminuição da proteólise na silagem, inibindo  
120 esta ação vegetal e microbiana, com a formação de complexos com a proteína presente  
121 na massa ensilada. Em condições de fermentação com meio ácido, é possível que ocorra  
122 o complexo tanino-proteína, uma vez que a faixa de variação de pH no processo  
123 fermentativo ocorre entre 3,5 a 7,5 (Deaville, 2010).

124 Jayanegara et al. (2019) estudaram os efeitos dos taninos, e comprovaram que  
125 eles têm a ação de limitar a proteólise da forragem ensilada. Além de melhorar vários  
126 parâmetros, como concentrações mais baixas de nitrogênio solúvel, aminoácido livre,  
127 nitrogênio não-protéico e teores de nitrogênio amoniacial na silagem. Outra ação  
128 positiva avaliada foi à limitação da fermentação butírica, fator que interfere na produção  
129 de silagem de boa qualidade.

130 A produção do acetato promove maior estabilidade aeróbica da silagem. Ao  
131 mesmo tempo, os taninos aparentemente não têm efeito negativo no processo de

132 fermentação da silagem, sugerindo que os taninos têm um potencial claro como aditivo  
133 de silagem, principalmente quando o material da silagem é rico em proteínas  
134 degradáveis, melhorando a digestibilidade *in vivo* e *in situ* em função do rápido  
135 abaixamento do pH promovido por ambiente propício, aumentando a disponibilidade da  
136 hemicelulose do volumoso utilizado (Jayanegara et al., 2019).

137 Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos de taninos condensados nos  
138 padrões fermentativos, composição bromatológica, estabilidade aeróbica e  
139 digestibilidade *in situ* de silagem de sorgo.

140

## 141 **2. Material e métodos**

142 *2.1. Experimento 1: Composição química e perfil fermentativo da silagem*

143

144 *2.1.1. Local, caracterização e tratamentos experimentais*

145

146 O sorgo forrageiro, variedade IPA 467-4-2, semeado em sulcos com  
147 espaçamento de 0,25m. Cultivado sob lâmina de irrigação com água salina doses de N,  
148 utilizando-se ureia como fonte de Nitrogênio. A planta foi colhida com 110 dias após o  
149 primeiro corte, rente ao solo para ensilagem em Abril de 2018, utilizando a planta  
150 inteira, colhida de uma área experimental a qual a forragem foi irrigada por meio de um  
151 sistema de gotejamento.

152 Os silos experimentais foram confeccionados no setor de ruminantes da  
153 Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) da Unidade Acadêmica de Serra  
154 Talhada (UAST), localizada sob as coordenadas geográficas 7° 59' 7" S, 38° 17' 34" W e  
155 altitude de 443 metros. Os silos foram confeccionados através de tubos de PVC com 10  
156 cm de diâmetro e 50 cm de comprimento. Após o corte da forragem, foi adicionado o

157 tanino comercial (TANAC<sup>®</sup>), o qual foi homogeneizado manualmente antes do processo  
158 de ensilagem. Foram avaliados cinco níveis do tanino comercial: 0,0; 7,5; 15,0; 22,5 e  
159 30,0 g/kg na matéria natural, o qual correspondeu a 0,0; 2,02; 3,05; 4,14 e 5,27 g/kg na  
160 matéria seca (Tabela 2).

161 Para a quantificação dos taninos condensados, foi utilizada a metodologia do HCL-  
162 Butanol, descrita por Terril (1992). A curva do padrão foi comparada com a curva de  
163 calibração obtida com o extrato comercial de Acácia Negra (Tabela 1).

164

165 **Tabela 1**

166 Fracionamento dos taninos condensados da silagem conforme os tratamentos

Taninos	Níveis de taninos				
	0,0	7,5	15,0	22,5	30,0
Taninos condensados solúvel, g/kg MS	0,0	0,23	0,38	0,65	0,94
Taninos condensados ligados à proteína, g/kg MS	0,0	1,19	1,76	2,33	3,04
Taninos condensados ligados à fibra, g/kg MS	0,0	0,61	0,91	1,16	1,29
Taninos condensados totais, g/kg MS	0,0	2,02	3,05	4,14	5,27

167

168 A forragem foi compactada com bastão de madeira, com densidade de 800 kg de  
169 matéria natural/m<sup>3</sup> e em seguida, o silo foi fechado com tampa de PVC, dotadas de  
170 válvula do tipo Bunsen, vedados com cola e fita. Na base de cada tubo foram colocados  
171 500 g de areia, lavada e seca em estufa de circulação ao ar a 55 °C, separada da  
172 forragem por uma tela e gaze. Os silos experimentais foram armazenados sob abrigo  
173 durante 120 dias.

174 A composição bromatológica, carboidrato solúvel e capacidade tampão do sorgo  
175 antes do processo de ensilagem (Tabela 2).

176

177 **Tabela 2**

178 Composição bromatológica, e capacidade tampão do sorgo antes da ensilagem.

Composição bromatológica	Sorgo forrageiro
Matéria seca, g/kg MN <sup>a</sup>	334,72
Matéria orgânica, g/kg MS <sup>b</sup>	898,03
Proteína bruta, g/kg MS	52,19
Extrato etéreo, g/kg MS	13,47
Carboidratos não fibrosos, g/kg MS	279,23
Fibra em detergente neutro corrigido <sup>c</sup> , g/kg MS	497,49
Fibra em detergente ácido, g/kg MS	323,57
Celulose, g/kg MS	280,13
Hemicelulose, g/kg MS	229,57
Lignina, g/kg MS	43,44
Proteína insolúvel em detergente neutro, g/kg	15,54
Proteína insolúvel em detergente ácido, g/kg PB	13,77
Carboidratos solúveis, g/kg MS	227,03
Capacidade tampão, E.mgNaOH/100g MS	13,4
Fracionamento dos carboidratos	
Fração A + B1 <sup>d</sup> , g/kg MS	455,23
Fração B2 <sup>e</sup> , g/kg MS	464,79
Fração C <sup>f</sup> , g/kg MS	79,95
Fracionamento do nitrogênio	

Fração A, g/kg MS	426,39
Fração B1+B2, g/kg MS	485,78
Fração B3, g/kg MS	1,77
Fração C, g/kg MS	86,05
Fracionamento dos taninos	
Taninos condensados solúveis, g/kg MS	0,15
Taninos condensados ligados à proteína, g/kg MS	0,08
Taninos condensados ligados à fibra, g/kg MS	0,28
Taninos condensados totais, g/kg MS	0,51

179 <sup>a</sup> Matéria natural; <sup>b</sup> Matéria seca; Compostos de Nitrogênio: A<sup>d</sup>; B1 + B2<sup>e</sup>; B3<sup>f</sup>; C1<sup>g</sup>;  
 180 Carboidratos: A + B1<sup>h</sup>; B2<sup>i</sup>; C<sup>j</sup>; <sup>d</sup>Nitrogênio não proteico; <sup>e</sup>Proteína verdadeira (B1:  
 181 degradada rapidamente no rúmen. B2: taxa de degradação intermediária); <sup>f</sup>Proteína  
 182 associada à parede celular; <sup>g</sup>Fibra indigestível; <sup>h</sup>Carboidratos não fibrosos; <sup>i</sup>Fração de  
 183 fibra disponível; <sup>j</sup>Fibra indigestível.

184

185 *2.1.2. Estimativas de perdas por efluentes, gases e recuperação da matéria seca*

186

187 A abertura dos silos experimentais ocorreu após 120 dias de fermentação, na  
 188 ocasião do fechamento dos silos foi aferido o peso do conjunto vazio (conjunto do silo +  
 189 areia) e posteriormente o conjunto cheio (conjunto do silo + areia + forragem). No  
 190 momento da abertura, foi realizada a pesagem do conjunto cheio e pesagem da silagem.

191 O peso do conjunto vazio na abertura do silo foi obtido por diferença. Para  
 192 estimativa de perdas por gases e efluentes, utilizaram-se as equações descritas por  
 193 Zanine et al., (2010).

194 Para a determinação de perdas por efluentes:

195                            $PE = [(PVf - Tb) - (PVi - Tb)] / MNi \times 1000$

196       Em que: PE = perdas por efluentes (kg/t MN); PVi = Peso do silo vazio + peso da  
197       areia na vedação (kg); PVf = Peso do silo vazio + peso da areia na abertura (kg); Tb =  
198       Peso do silo vazio (kg); MNi = Massa de forragem na vedação (kg).

199       Para a determinação de perdas por gases:

200                            $G = (PCf - PCa) / (MNf \times MSf) \times 10000$

201       Em que: G = perdas por gases (%MS); PCf = Peso do silo cheio vedado no  
202       fechamento (kg); PCa = Peso do silo aberto (kg); MNf = Massa de forragem (kg);  
203       MSf = Concentração de MS da forragem (%).

204       A estimativa da recuperação de matéria seca:

205                            $RMS = (MNa \times MSa) / (MNf \times MSf) \times 100$

206       Em que: RMS = Taxa de recuperação de matéria seca (%); MNa = Massa de  
207       forragem na abertura do silo (kg); MSa = Concentração de matéria seca da forragem  
208       na abertura do silo (%); MNf = Massa de forragem na vedação do silo (kg); MSf =  
209       Concentração de matéria seca da forragem na vedação do silo (%).

210

### 211       *2.1.3. Análises químico-bromatológicas*

212

213       As análises referentes à composição química foram realizadas no Laboratório de  
214       Nutrição Animal (LANA), localizado no Centro Laboratorial de Apoio à Pesquisa  
215       (CENLAG) Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade Acadêmica de  
216       Garanhuns (UFRPE / UAG).

217       Após a abertura do silo, a silagem foi homogeneizada e amostrada. Em seguida  
218       realizou-se a pré-secagem das amostras em estufa com ventilação forçada à temperatura  
219       de 55 °C por 72 horas. Após essas etapas, as amostras foram moídas em moinho de

220 facas (Marconi® - tipo Wiley, modelo: MA340), com peneiras de crivos de 2mm e  
221 1mm, e em seguida, armazenadas em recipientes de polietileno previamente  
222 identificados.

223 As análises referentes à matéria seca (MS) (método 967.03), matéria orgânica  
224 (MO), matéria mineral (MM) (método 942.05) e proteína bruta (PB) (método 988.05) e  
225 o extrato etéreo (EE) (Sohxlet) foram realizadas de acordo a com a metodologia descrita  
226 pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1990).

227 As análises de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e  
228 FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) foram realizadas de acordo com Van  
229 Soest et al. (1991), com modificações propostas por Senger et al. (2008), no qual foi  
230 utilizada autoclave com temperatura a 110 °C por 40 minutos.

231 Para determinação da lignina, os resíduos de FDA foram lavados com ácido  
232 sulfúrico a 72%, visando à solubilização da celulose, e obtendo a lignina digerida em  
233 ácido (LDA), conforme metodologia proposta por Van Soest et al. (1991), e as frações  
234 de hemicelulose (HEM) e celulose (CEL) foram estimadas pelas equações: HEM =  
235 FDN – FDA e CEL = FDA – LDA, respectivamente.

236

237 2.1.5. *Determinação de Potencial Hidrogeniônico, Ácidos orgânicos e Nitrogênio*  
238 *amoniacial (N-NH<sub>3</sub>)*

239

240 Após abertura dos silos, foi retirada uma amostra da silagem *in natura* para  
241 extrair a fração líquida da silagem com uso de uma prensa mecânica, para aferição o pH  
242 da silagem fazendo uso de um pHmetro digital.

243 Após a mensuração do pH, uma alíquota de 20 mL foi acondicionada em  
244 recipientes de vidro contendo um mL de ácido clorídrico (6 N) e armazenado a -20 °C,

245 para a determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, ácido propiônico,  
246 ácido butírico e ácido lático) e do nitrogênio amoniacial (N-NH<sub>3</sub>). A análise de  
247 nitrogênio amoniacial foi determinada após digestão e pela destilação, como  
248 porcentagem do nitrogênio total, seguindo a metodologia Bolsen et al. (1992).

249 Para a determinação dos ácidos orgânicos, a análise foi realizada na  
250 Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no departamento de engenharia química.  
251 Seguindo a metodologia sugerida por Kung Jr. et al. (1996). A partir de um extrato  
252 aquoso obtido da silagem, realizou-se por meio de cromatografia a gás, modelo CG-  
253 Master, com detector de ionização por chama e injetor split/splittles. Para registro e  
254 análise das áreas de cromatografia, o aparelho é acoplado a um computador, utilizando-  
255 se o programa PeakSimple II (SRI Instruments, USA).

256 Os compostos foram separados e identificados em uma coluna BPX-70 (60m x  
257 0,25mm x 0,25mm). Para a separação cromatográfica, 2 µL de amostra foi injetado com  
258 auxílio de seringa. As temperaturas isotérmicas foram controladas à 160 °C, a  
259 temperatura do injetor foi de 210 °C e do detector foi de 220 °C. O fluxo na coluna foi  
260 com vazão da fase móvel (H<sub>2</sub>) foi de 3,0 mL/minuto.

261

262 *2.1.6. Determinação da capacidade tampão*

263

264 A capacidade tampão foi determinada mediante metodologia de Mizubuti et al.  
265 (2009), utilizando de 10 a 20 g de amostra fresca, posteriormente a amostra foi  
266 macerada com 250 mL de água destilada. O material macerado foi titulado primeiro até  
267 pH 3,0 com HCl à uma concentração de 0,1 N para liberação de bicarbonatos bem como  
268 dióxido de carbono. Em seguida, foi titulado até pH 6,0 com NaOH 0,1 N, sendo  
269 registrado o volume gasto de NaOH para mudar o pH de 4,0 até 6,0. A capacidade

270 tampão foi expressa como equivalente miligrama (e.mg) de álcali, requerido para mudar  
271 o pH de 4,0 até 6,0 por 100g de matéria seca, após correção para o valor da titulação de  
272 250 mL de água destilada (Branco).

273 Para a determinação da capacidade tampão empregou-se a equação descrita por  
274 Mizubuti et al. (2009):

275 
$$\text{CATP} = 0,1 * (\text{Va} - \text{Vb}) / \text{PA} * 100$$

276 Em que: CATP = capacidade tampão em e.mg NaOH/100 g MS; 0,1 =  
277 Normalidade do NaOH; Va = volume de NaOH gasto para mudar o pH da amostra de  
278 4,0 para 6,0; Vb = volume de NaOH gasto para mudar o pH do branco de 4,0 para 6,0;  
279 PA = peso da amostra = [(peso da amostra\*MS)/100].

280

281 *2.1.7. Fracionamentos de carboidratos e dos compostos nitrogenados*

282

283 Os carboidratos totais (CHOT) foram calculados conforme Sniffen et al. (1992) em  
284 que, CHOT= 100 – (PB + EE + MM), e fracionados em A+B1, B2 e C, sendo os  
285 carboidratos não-fibrosos (CNF), que correspondem às frações A+B1, pela diferença  
286 entre os CHOT e a FDNcp. A fração C representada pela FDN indigestível, foi obtida  
287 após 288 horas de incubação *in situ* de um grama de amostra, em sacos F57 da  
288 ANKON, em ovinos fistulados no rúmen (Valente et al., 2011). Após o término da  
289 incubação, o material foi lavado, e submetido à análise de FDN. A fração B2, que  
290 corresponde à fração disponível da fibra, foi obtida pela diferença entre a FDNcp e a  
291 fração C.

292 Os teores de nitrogênio não-proteico (fração A), o nitrogênio insolúvel em  
293 detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram  
294 estimados conforme metodologia descrita por Licitra et al. (1996). A fração B1+B2 foi

295 obtida através da expressão:  $B1+B2 = 100 - (A+ B3 + C)$ , a fração B3 obtida pela  
296 diferença entre o NIDN e o NIDA e a fração C considerada como o NIDA.

297

298 *2.1.8. Delineamento e análise estatística*

299

300 O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) com  
301 cinco tratamentos e cinco repetições. As comparações entre os diferentes níveis de  
302 inclusão de taninos na silagem de sorgo foram conduzidas por decomposição da soma  
303 de quadrados dos tratamentos em contrates relativos aos efeitos linear, quadrático,  
304 cúbico e de quarto grau, com subsequente ajustamento de equações de regressão. A  
305 análise de contraste polinomial foi feita no *Statistical Analysis Systems* (SAS, versão  
306 9.1) codificado por CONTRAST.

307 A normalidade dos dados (Shapiro-wilk a 5% de probabilidade) foi verificada  
308 por meio do procedimento UNIVARIATE (PROC UNIVARIATE), do SAS. O erro  
309 padrão da média foi obtido a partir dos dados originais. As diferenças entre os  
310 tratamentos foram consideradas significativas quando ( $P<0,05$ ). O seguinte modelo  
311 estatístico foi utilizado:

312 
$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

313 Em que:  $Y_{ij}$ = Valor observado da variável;  $\mu$ = Média geral;  $T_j$ = Efeito do  
314 tratamento;  $e_{ij}$ = Erro residual.

315

316 *2.2. Experimento 2: Estabilidade aeróbica*

317 2.2.1. Local, caracterização, tratamentos

318

319 A avaliação da estabilidade aeróbica da silagem foi realizada no laboratório de  
320 nutrição animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Unidade  
321 Acadêmica de Serra Talhada (UAST), localizada sob as coordenadas geográficas 7° 59'  
322 7" S, 38° 17' 34" W e altitude de 443 metros.

323 Na ocasião da abertura dos silos da silagem (Tempo 0) foi retirada uma amostra,  
324 e submetida à análise bromatológica, realizadas no Laboratório de Nutrição Animal  
325 (LANA), localizado no Centro Laboratorial de Apoio à Pesquisa (CENLAG) da  
326 Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE / UAG).

327 A silagem foi exposta ao ar em um sistema adaptado ao descrito por Ashbell et  
328 al. (1990), usado para determinação de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) que foi avaliado nos dias 1,  
329 3, 6, 9 e 12 de exposição, com cinco repetições por tempo de exposição. O sistema para  
330 a mensuração da deterioração aeróbica foi elaborado com garrafas de polietileno (PET),  
331 sendo que para o preparo de um sistema, foram utilizadas duas garrafas. A parte  
332 superior de uma garrafa corresponde ao volume de um litro e foi seccionada, sendo  
333 usada como parte superior do sistema enquanto a base original da garrafa, como tampa  
334 do sistema. Foram feitos dois orifícios de 1cm de diâmetro, para permitir que ocorra a  
335 circulação de ar, um na tampa e outro na base, protegido por uma tela, para evitar a  
336 entrada de insetos.

337 Foram colocados, levemente compactados, em média 200g de silagem, onde foi  
338 devidamente registrado. A parte inferior do sistema foi feita com outra garrafa,  
339 recebendo 100 mL de hidróxido de potássio (KOH) a 20%. As partes superior e inferior  
340 foram fixadas com fita adesiva, formando assim o sistema. Após cada tempo de  
341 exposição (dias), amostras da silagem dos sistemas foram divididas em duas partes,

342 sendo que de uma parte se retirou a fração líquida da silagem, com o auxílio de uma  
343 prensa mecânica, que foi filtrado em gaze, e mensurado o pH. A outra porção da  
344 silagem foi acondicionada em sacos plásticos devidamente identificados e congelada  
345 para análises químico-bromatológica posteriores.

346

347 *2.2.2. Análises químico-bromatológicas*

348

349 As amostras das silagens expostas ao ar nos diferentes tempos foram conduzidas  
350 ao Laboratório de Nutrição Animal (CENLAG), localizado na unidade acadêmica de  
351 Garanhuns-PE, para descongelamento, pesagem e pré-secadas em estufa com circulação  
352 forçada de ar, a uma temperatura de 55 °C durante 72 h e novamente pesadas. Após a  
353 secagem, a amostra foi triturada em moinho com peneira de 1mm e submetida às  
354 análises químico-bromatológica.

355 As análises referentes à matéria seca (MS) (método 967.03), matéria orgânica  
356 (MO), matéria mineral (MM) (método 942.05) e proteína bruta (PB) (método 988.05) e  
357 o extrato etéreo (EE) (Sohxlet) foram realizadas de acordo com a metodologia descrita  
358 pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1990).

359 Fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA),  
360 hemicelulose (HEM), celulose (CEL) e lignina (LIG) conforme Van Soest et al. (1991);  
361 com modificações propostas por Senger et al. (2008), no qual foi utilizada autoclave  
362 com temperatura a 110 °C por 40 minutos. E carboidratos não-fibrosos (CNF = 100 –  
363 (%PB + %FDN + %EE + %MM)) (adaptado de Hall, 2001) e pH (potenciômetro  
364 digital).

365

366 2.2.3. Quantificação de Dióxido de carbono

367

368 O volume total do hidróxido de potássio (KOH) de cada sistema foi armazenado  
369 em recipientes hermeticamente fechados, devidamente identificados, para determinação  
370 do CO<sub>2</sub> produzido durante o processo de exposição ao ar. Para quantificação do CO<sub>2</sub>, 10  
371 mL da solução de KOH do sistema, foi titulada com solução de ácido clorídrico (HCl)  
372 1N; nesta titulação, a indicação de que o CO<sub>2</sub> foi expelido, foi a própria alteração no  
373 valor do pH entre 8,1 e 3,6, sendo anotado o volume (mL) de HCl gasto neste intervalo  
374 de pH. Para facilitar a visualização dessas alterações de pH foram utilizados os  
375 indicadores fenolftaleína, que tem seu ponto de viragem próximo a 8,1 e alaranjado de  
376 metila, cujo ponto de viragem é próximo a 3,6. O eletrodo do pHmetro permaneceu  
377 todo o tempo da titulação em contato com a solução de KOH. A quantidade de CO<sub>2</sub> (g  
378 kg<sup>-1</sup> de MS) foi calculada de acordo com a equação:

$$379 \text{CO}_2 (\text{g kg de MS}) = 0,044 * T * V / A * S * MS$$

380 Em que: T = Volume de HCl gasto na titulação (mL); V = Volume total de  
381 KOH 20% (100 mL); A = Volume de KOH 20% usado na determinação (10 mL); S =  
382 Quantidade de silagem fresca (kg) adicionada no sistema; MS = Matéria Seca da  
383 silagem do sistema.

384

385 2.2.4. Delineamento e análise estatística

386

387 O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com  
388 esquema de parcelas subdivididas com cinco repetições e cinco tratamentos com  
389 inclusão de diferentes níveis de tanino: 0; 7,5; 15; 22,5 e 30 g/kg de MN (parcelas  
390 principais) e os dias de exposição da silagem ao ar (subparcela).

391 Os resultados obtidos foram submetidos à análise pelo procedimento PROC  
392 GLM do *Statistical Analysis Systems* (SAS, versão 9.1). Para verificar o efeito da  
393 inclusão dos taninos dentro dos dias de exposição. A normalidade dos dados (Shapiro-  
394 wilk a 5% de probabilidade) foi verificada por meio do procedimento UNIVARIATE  
395 (PROC UNIVARIATE), do SAS. O erro padrão da média foi obtido a partir dos dados  
396 originais. As diferenças entre os tratamentos foram consideradas significativas quando  
397 ( $P<0,05$ ). O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

398 
$$Y_{ij} = \mu + I_i + e_{ij} + \beta_j + (I\beta)_{ij}$$

399 Em que:  $Y_{ij}$ = Valor observado da variável;  $\mu$ = Média geral;  $I_i$ = Efeito do  
400 tratamento;  $e_{ij}$ = Erro residual;  $\beta_j$ = Efeito do tempo de exposição ao ar;  $(I\beta)_{ij}$ = Efeito da  
401 interação entre o tanino e o tempo de exposição.

402

403 *2.3. Experimento 3: Digestibilidade in situ*

404

405 *2.3.1. Localização, Animais e Instalações*

406

407 O ensaio da digestibilidade *in situ* foi realizado na Unidade Acadêmica de Serra  
408 Talhada/UFRPE. O período experimental durou 20 dias, 15 dias para a adaptação dos  
409 animais à dieta e cinco dias de incubação. Foram utilizados três ovíos da raça Santa  
410 Inês, inteiros, peso corporal médio de  $60\pm2$  kg, e fistulados no rúmen. Os animais foram  
411 mantidos em baias individuais com  $2\times2$  metros, com fornecimento de ração e água à  
412 vontade. A ração foi composta por feno de capim-tifton 85, farelo de soja, milho moído  
413 e sal mineral, em uma proporção volumoso concentrado de 80:20.

414 Para a digestibilidade foram retiradas uma alíquota de 2g de amostra da silagem  
415 de acordo com cada tratamento e colocadas em sacos de náilon devidamente pesados e

416 identificados, porosidade de 50 micras, com uma relação de 14,3 mg de amostra por cm<sup>-</sup>  
417 <sup>2</sup> seguindo as recomendações de Nocek (1988).

418

419 *2.3.2. Incubação*

420

421 Os tempos de incubação no rúmen foram: 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 h em  
422 ordem decrescente. Foram colocadas duas repetições por amostra e por tempo de  
423 incubação em cada animal. Decorrido o tempo de incubação, os sacos foram retirados  
424 ao mesmo tempo do interior do rúmen pela fistula e imediatamente imersos em  
425 recipientes com água e lavados em água corrente até que a água estivesse limpa. Os  
426 sacos do tempo zero hora foram lavados sem incubação no rúmen. Após a lavagem os  
427 sacos foram secos em estufa de ventilação forçada a uma temperatura de 55 °C por 72h.

428

429 *2.3.3. Análises bromatológicas e determinação da digestibilidade*

430 Após a saída da estufa foi tomada o peso das amostras para obtenção e  
431 desaparecimento da MS, PB e FDN. Para expressar a digestibilidade potencial (DP) dos  
432 alimentos foi observada a perda de peso em cada tempo de incubação, os dados do  
433 desaparecimento foram ajustados ao modelo proposto por Orskov & McDonald (1979),  
434 para o cálculo da digestibilidade potencial (a + b) foram utilizadas as constantes a, b, c:

435 
$$DP(t) = a + b(1 - e^{-ct})$$

436 Em que: DP = digestibilidade potencial; a = fração solúvel; b = fração  
437 potencialmente degradável indica a fração que foi degradada no tempo; c = taxa de  
438 degradação em que a fração descrita por b, degradada por hora. A fração solúvel da  
439 silagem foi determinada pela média obtida da lavagem de dois sacos com amostras em  
440 banho-maria a 39 °C durante 15 minutos. A digestibilidade efetiva (DE) representa a

441 quantidade de alimento realmente degradado. A DE foi calculada por meio da seguinte  
442 equação (McDonald, 1981):

$$443 \quad DE = a + [(b*c)/(c + k)] * \exp [-(c+k)t_0]$$

444 Em que:  $k$  = taxa de passagem do conteúdo ruminal por hora, assumindo-se os  
445 valores de 2, 5, e 8%/h (AFRC, 1993);  $t_0$  = refere-se ao lag time.

446

447 *2.3.4. Delineamento e análise estatística*

448

449 O delineamento experimental para a digestibilidade *in situ* foi o em blocos  
450 casualizados com três repetições (animais), cinco níveis de tanino: 0; 7,5; 15; 22,5 e 30  
451 g/kg de MN (parcelas principais) e os tempos de incubação (subparcelas). As  
452 comparações entre os diferentes níveis de inclusão de taninos na silagem de sorgo foram  
453 conduzidas por decomposição da soma de quadrados dos tratamentos em contrates  
454 relativos aos efeitos linear, quadrático, cúbico e de quarto grau, com subsequente  
455 ajustamento de equações de regressão. A análise de contraste polinomial foi feita no  
456 *Statistical Analysis Systems* (SAS, versão 9.1) codificado por CONTRAST.

457 A normalidade dos dados (Shapiro-Wilk a 5% de probabilidade) foi verificada  
458 por meio do procedimento UNIVARIATE (PROC UNIVARIATE), do SAS. O erro  
459 padrão da média foi obtido a partir dos dados originais. As diferenças entre os  
460 tratamentos foram consideradas significativas ( $P < 0,05$ ). O seguinte modelo estatístico  
461 foi utilizado:

$$462 \quad Y_{ijk} = \mu + \beta + \beta_j + (\beta)ij + \gamma_k + (\beta\gamma)jk + \varepsilon_{ijk}$$

463 Em que:  $Y_{ijk}$  = Valor observado na parcela subparcela  $k$ , da parcela  $j$  e repetição  
464  $i$ ;  $\mu$  = Média Geral;  $\beta$  = Efeito do Bloco;  $\beta_j$  = Efeito da parcela principal (B);  $(\beta)ij$  =

465 Erro da parcela principal –E (A);  $\gamma_k$  = Efeito da subparcela (C);  $(\beta\gamma)jk$  = Interação

466  $BxC$ ;  $\varepsilon_{ijk}$  = Erro da subparcela –E (B).

467

468 **3. Resultados**

469 *3.1. Experimento 1: Parâmetros de qualidade e composição química*

470

471 *3.1.1 Perdas e perfil fermentativo*

472

473 A inclusão de tanino na silagem de sorgo apresentou comportamento quadrático

474 ( $P<0,05$ ) para as perdas por gases. No entanto, as perdas por efluentes e a recuperação

475 da matéria seca da silagem não apresentaram efeito significativo ( $P>0,05$ ) (Tabela 3).

476 **Tabela 3**

477 Perdas e perfil fermentativos de silagem de sorgo com diferentes níveis de inclusão tanino

478

Variável	Níveis de inclusão de tanino g/kg MN					EPM <sup>a</sup>	$\hat{Y}$	Contraste polinomial	
	0,0	7,5	15,0	22,5	30,0			$L^b$	$Q^c$
P. por Gases,g/kg MS	14,7	29,7	37,2	39,6	35,5	0,24	[1]	0,004	0,005
P. por Efluentes,g/kg MS	3,25	3,29	3,30	3,23	3,27	1,52	3,27	0,966	0,645
RMS <sup>d</sup> , g/kg MS	95,49	96,14	96,72	97,48	97,57	0,47	96,6	0,094	0,809
pH	3,80	3,88	3,92	3,91	3,89	0,01	[2]	0,004	0,004
N-NH <sub>3</sub> <sup>e</sup> , % N total	8,54	7,77	7,97	7,93	8,43	0,12	[3]	0,931	0,035
Ácido Acético, g/kg MS	19,65	13,69	8,92	10,45	19,43	1,10	[4]	0,408	<,001
Ácido Butírico, g/kg MS	0,66	0,88	2,22	2,25	6,82	0,55	[5]	<,001	0,002
Ácido Propiônico,g/kgM <sup>f</sup>	1,16	4,91	15,12	27,27	51,13	3,89	[6]	<,001	0,007
Ácido Lático, g/kg MS	247,97	187,01	204,05	220,38	417,34	21,40	[7]	0,001	0,002
AGT <sup>f</sup> , g/kg MS	268,61	206,49	230,31	262,94	499,88	26,41	[8]	0,002	0,002

479

480 <sup>a</sup> Erro padrão da média; <sup>b</sup> Efeito linear; <sup>c</sup> Efeito quadrático; <sup>d</sup> Recuperação de matéria  
481 seca; <sup>e</sup> Nitrogênio amoniacal; <sup>f</sup> Ácidos orgânicos totais; <sup>[1]</sup> $\hat{Y} = -0,0055x^2 + 0,2336x +$   
482  $1,4854 / R^2 = 0,99$ ; <sup>[2]</sup> $\hat{Y} = -0,0003x^2 + 0,0123x + 3,8023 / R^2 = 0,99$ ; <sup>[3]</sup> $\hat{Y} = 0,0029x^2 -$   
483  $0,0884x + 8,4686 / R^2 = 0,83$ ; <sup>[4]</sup> $\hat{Y} = 0,0459x^2 - 1,4274x + 20,333 / R^2 = 0,96$ ; <sup>[5]</sup> $\hat{Y} =$   
484  $0,0094x^2 - 0,099x + 0,8837 / R^2 = 0,91$ ; <sup>[6]</sup> $\hat{Y} = 0,0535x^2 + 0,0246x + 1,4809 / R^2 = 0,99$ ;  
485 <sup>[7]</sup> $\hat{Y} = 0,6541x^2 - 14,663x + 254,52 / R^2 = 0,94$ ; <sup>[8]</sup> $\hat{Y} = 0,7707x^2 - 16,201x + 276,55 /$   
486  $R^2 = 0,96$ .

487

488 A utilização de tanino na qualidade da fermentação da silagem, mostrou efeito  
489 quadrático ( $P<0,05$ ) para as variáveis de pH, para os ácidos acético, butírico, propiônico  
490 e lático, como também para os ácidos orgânicos totais, com respectivos pontos de  
491 máxima de 20,5; 15,54; 5,26; 0,23; 11,20 e 10,51 g de tanino/kg de MN com a inclusão  
492 do tanino na silagem.

493 Para o teor de nitrogênio amoniacal, a inclusão do tanino na silagem de sorgo  
494 apresentou resposta quadrática ( $P<0,05$ ) com ponto de máxima de 15,24 g de tanino/kg  
495 de MN.

496

497 *3.1.2. Composição bromatológica*

498

499 A composição bromatológica da silagem de sorgo apresentou efeito quadrático  
500 ( $P<0,05$ ) com ponto de máxima de 15,27 e 14,72 g de tanino/kg de MN  
501 respectivamente, para os teores de matéria seca e proteína bruta com a inclusão do  
502 tanino (Tabela 4).

503

**Tabela 4**

504

Composição bromatológica de silagem de sorgo com diferentes níveis de inclusão de tanino

Variável	Níveis de inclusão de tanino g/kg MN					EPM <sup>a</sup>	$\hat{Y}$	Contraste polinomial	
	0,0	7,5	15,0	22,5	30,0			$L^b$	$Q^c$
Matéria Seca, g/kg MN	346,41	329,77	335,64	324,83	347,27	2,96	[1]	0,837	0,007
Matéria orgânica, g/kg MS	895,13	894,69	889,98	888,82	888,43	1,34	892,15	0,991	0,385
Proteína bruta, g/kg MS	50,91	54,91	54,28	54,97	50,48	0,43	[2]	0,592	<0,001
CNF <sup>d</sup> , g/kg MS	233,67	246,86	232,17	236,90	275,96	9,69	245,11	0,301	0,402
FDNcp <sup>e</sup> , g/kg MS	551,03	533,99	528,65	509,23	506,99	6,85	[3]	0,021	0777
FDA <sup>f</sup> , g/kg MS	337,45	351,86	348,61	354,11	348,77	4,25	348,16	0,441	0,422
Hemicelulose, g/kg MS	259,71	226,33	226,24	226,01	200,96	6,51	[4]	0,009	0,919
Celulose, g/kg MS	294,26	308,94	306,07	312,31	306,28	4,25	305,57	0,395	0,397
Lignina, g/kg MS	43,17	42,91	42,53	41,79	42,48	0,35	42,58	0,347	0,619
PIDIN <sup>g</sup> , g/kg MS	14,38	14,29	13,48	13,92	15,84	0,49	14,38	0,515	0,955
PIDAh, g/kg MS	15,29	16,05	17,13	17,50	18,75	0,49	[5]	0,023	0,946

505 <sup>a</sup> Erro padrão da média; <sup>b</sup> Efeito Linear; <sup>c</sup> Efeito quadrático; <sup>d</sup> Carboidrato não-fibroso; <sup>e</sup>  
506 Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas; <sup>f</sup> Fibra de detergente  
507 ácido; <sup>g</sup> Proteína insolúvel em detergente neutro <sup>h</sup> Detergente ácido insolúvel; <sup>[1]</sup>Ŷ =  
508  $0,0781x^2 - 2,385x + 346,21 / R^2 = 0,68$ ; <sup>[2]</sup>Ŷ =  $-0,0199x^2 + 0,5859x + 51,033 / R^2 =$   
509  $0,89$ ; <sup>[3]</sup>Ŷ =  $-1,5045x + 548,55 / R^2 = 0,95$ ; <sup>[4]</sup>Ŷ =  $-1,5709x + 251,41 / R^2 = 0,79$ ; <sup>[5]</sup>Ŷ =  
510  $0,1116x + 15,27 / R^2 = 0,98$ .

511

512 Houve efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ) para a fibra em detergente neutro  
513 corrigida para cinza e proteína (FDNcp) e para o conteúdo da hemicelulose com o  
514 aumento dos níveis de tanino na silagem.

515 Houve resposta linear crescente ( $P < 0,05$ ) para a proteína contida na fibra em  
516 detergente ácido (PIDA) em função do aumento dos níveis de inclusão de tanino na  
517 silagem de sorgo.

518 Para a variável matéria orgânica, carboidrato não fibroso, fibra em detergente  
519 ácido, fibra em detergente neutro, celulose, lignina e proteína insolúvel em detergente  
520 neutro não apresentaram efeito significativo ( $P > 0,05$ ) (Tabela 4).

521

522 *3.1. 3. Fracionamento dos compostos nitrogenados e dos carboidratos*

523

524 Com relação ao fracionamento dos compostos nitrogenados e dos carboidratos  
525 não houve influência ( $P > 0,05$ ) pela inclusão de tanino na silagem de sorgo (Tabela 5).

526

527

528

529

530 **Tabela 5**

531 Fracionamento dos compostos nitrogenados e dos carboidratos de silagem de sorgo com  
 532 diferentes níveis de tanino

Variável	Níveis de inclusão de tanino g/kg MN					Contraste polinomial		
	0,0	7,5	15,0	22,5	30,0	EPM <sup>a</sup>	L <sup>a</sup>	Q <sup>b</sup>
Compostos de nitrogênio, g/kg de proteína bruta								
A <sup>d</sup>	512,08	489,57	460,54	499,03	417,54	21,92	0,277	0,794
B1+B2 <sup>e</sup>	403,71	423,45	461,10	424,57	499,36	22,46	0,259	0,856
B3 <sup>f</sup>	1,08	1,64	1,13	2,03	0,65	0,22	0,754	0,193
C <sup>g</sup>	83,11	85,33	77,22	74,37	82,45	2,28	0,464	0,394
Carboidratos, g/kg de carboidrato								
A+B1 <sup>h</sup>	533,67	546,86	532,17	536,91	575,76	9,66	0,301	0,402
B2 <sup>i</sup>	388,4	376,19	387,92	386,48	353,14	6,27	0,134	0,498
C <sup>j</sup>	77,92	76,93	79,9	76,6	71,09	1,93	0,129	0,838

533 <sup>a</sup> Erro padrão da média; <sup>b</sup> Efeito Linear; <sup>c</sup> Efeito quadrático; Compostos de Nitrogênio:  
 534 A<sup>d</sup>; B1 + B2<sup>e</sup>; B3<sup>f</sup>; C1<sup>g</sup>; Carboidratos: A + B1<sup>h</sup>; B2<sup>i</sup>; C<sup>j</sup>; <sup>d</sup>Nitrogênio não proteico;  
 535 <sup>e</sup>Proteína verdadeira (B1: degradada rapidamente no rúmen. B2: taxa de degradação  
 536 intermediária); <sup>f</sup>Proteína associada à parede celular; <sup>g</sup>Fibra indigestível; <sup>h</sup>Carboidratos  
 537 não fibrosos; <sup>i</sup>Fração de fibra disponível; <sup>j</sup>Fibra indigestível.

538

539 *3.2 Experimento 2: Estabilidade aeróbica*

540

541 *3.2.1. Composição bromatológica*

542

543 Os dados referentes à composição bromatológica do período de estabilidade  
544 aeróbica da silagem de sorgo com inclusão do tanino, exposta ao ar em diferentes dias  
545 (Tabela 6).

546 Houve efeito significativo ( $P<0,05$ ) para a composição bromatológica da  
547 silagem ao longo dos dias de exposição ao ar. Para os valores médios de matéria seca,  
548 mostrou nos dias 1, 6 e 9 de exposição, com ponto de máxima de 15,27; 19; 13,05 g de  
549 tanino/kg de MN, respectivamente.

550 **Tabela 6**

551 Composição química e estabilidade aeróbica de silagem sorgo com níveis de tanino em diferentes dias de exposição ao ar

Variável	Níveis de tanino (g/kg MN)					EPM <sup>a</sup>	$\hat{Y}$	Contraste polinomial	
	0,0	7,5	15,0	22,5	30,0			$L^b$	$Q^c$
	1 <sup>a</sup> dia de exposição								
Matéria Seca, g/kg MN	384,25	329,13	348,94	335,84	344,72	5,55	[1]	0,029	0,015
Matéria orgânica,g/kgMS	942,10	946,65	940,60	937,16	945,17	0,85	942,34	0,626	0,181
Proteína bruta, g/kg MS	38,99	35,47	37,65	36,90	39,80	0,47	37,76	0,5223	0,107
FDN <sup>d</sup> , g/kg MS	593,59	603,10	628,66	554,50	548,98	5,92	[2]	0,004	0,167
FDA <sup>e</sup> , g/kg MS	388,90	368,21	380,98	360,65	358,50	6,05	371,45	0,076	0,928
CNF <sup>f</sup> , g/kg MS	203,16	243,85	292,48	339,27	350,39	5,62	[3]	0,006	0,166
pH	3,78	3,85	3,87	3,85	3,83	0,006	[4]	<,001	<,001
CO <sub>2</sub> , g/kg MS	1,70	2,04	2,19	2,20	1,99	0,04	[5]	<,001	<,001

3 <sup>a</sup> dia de exposição									
Matéria Seca, g/kg MN	351,86	333,35	342,14	336,85	334,92	2,71	334,92	0,352	0,631
Matéria orgânica,g/kgMS	938,70	949,02	935,68	935,25	942,58	1,18	940,25	0,356	0,279
Proteína bruta, g/kg MS	41,64	39,26	39,07	36,30	41,76	0,77	[6]	0,626	0,027
FDN <sup>d</sup> , g/kg MS	615,03	660,24	628,66	554,87	576,89	9,21	[7]	0,002	0,165
FDA <sup>e</sup> , g/kg MS	359,27	352,27	380,69	352,38	367,01	5,07	362,32	0,367	0,208
CNF <sup>f</sup> , g/kg MS	236,57	243,85	261,21	326,99	328,26	8,70	[8]	0,003	0,173
pH	3,84	3,87	3,88	3,86	3,86	0,004	[9]	0,280	0,003
CO <sub>2</sub> , g/kg MS	1,87	2,09	2,26	2,28	2,11	0,03	[10]	<,001	<,001
6 <sup>a</sup> dia de exposição									
Matéria Seca, g/kg MN	364,23	310,01	322,44	335,98	341,75	6,48	[11]	0,585	0,002
Matéria orgânica,g/kgMS	940,87	926,11	934,60	937,47	942,12	1,84	[12]	0,035	0,001
Proteína bruta, g/kg MS	35,95	44,48	43,01	39,21	40,19	0,86	[13]	0,550	0,006
FDN <sup>d</sup> , g/kg MS	655,65	626,86	642,16	612,66	611,70	8,32	[14]	0,032	0,837
FDA <sup>e</sup> , g/kg MS	379,28	371,74	430,85	368,45	385,14	7,01	387,09	0,777	0,106

CNF <sup>f</sup> , g/kg MS	243,52	248,92	242,42	279,68	284,19	8,69	[15]	0,019	0,480
pH	3,94	3,99	3,96	3,93	3,92	0,006	[16]	0,001	0,001
CO <sub>2</sub> , g/kg MS	1,97	2,42	2,50	2,46	2,19	0,04	[17]	0,005	<,001

#### 9<sup>a</sup> dia de exposição

Matéria Seca, g/kg MN	340,18	289,20	333,45	319,73	340,91	6,89	[18]	0,278	0,031
Matéria orgânica,g/kgMS	933,20	935,40	932,96	939,89	943,45	1,26	[19]	0,004	0,142
Proteína bruta, g/kg MS	41,40	48,05	44,20	42,15	38,58	0,92	[20]	0,0216	0,003
FDN <sup>d</sup> , g/kg MS	686,60	687,82	629,39	616,84	637,73	9,86	[21]	0,004	0,096
FDA <sup>e</sup> , g/kg MS	376,12	420,04	412,51	375,24	443,54	7,21	[22]	0,004	0,295
CNF <sup>f</sup> , g/kg MS	192,26	193,61	252,95	255,05	250,69	10,43	[23]	<,001	0,272
pH	4,2	4,29	4,3	4,41	4,11	0,002	[24]	0,046	<,001
CO <sub>2</sub> , g/kg MS	2,16	2,21	2,31	2,32	2,37	0,03	[25]	<,001	<,001

#### 12<sup>a</sup> dia de exposição

Matéria Seca, g/kg MN	322,93	316,18	332,54	312,30	329,79	2,31	322,75	0,717	0,755
Matéria orgânica,g/kgMS	945,15	933,05	931,65	939,02	940,09	1,11	[26]	0,891	0,001

Proteína bruta, g/kg MS	43,00	47,73	43,75	40,79	43,33	1,02	43,72	0,174	0,779
FDN <sup>d</sup> , g/kg MS	680,23	672,11	648,50	671,30	640,35	5,92	662,50	0,097	0,987
FDA <sup>e</sup> , g/kg MS	368,13	420,59	437,30	425,91	443,54	7,66	[27]	0,003	0,045
CNF <sup>f</sup> , g/kg MS	216,17	207,25	233,09	219,84	250,69	5,98	225,41	0,081	0,498
pH	4,39	4,42	4,4	4,96	4,43	0,005	[28]	<,001	<,001
CO <sub>2</sub> , g/kg MS	2,36	2,77	2,69	2,86	2,49	0,03	[29]	0,026	<,001

553 <sup>a</sup> Erro padrão da média; <sup>b</sup> Efeito Linear; <sup>c</sup> Efeito quadrático; <sup>d</sup> Fibra detergente neutro; <sup>e</sup> Fibra em detergente ácido; <sup>f</sup> Carboidrato não-fibroso <sup>[1]</sup>Ŷ= 0,1207x2-4,5871x+376,63/R<sup>2</sup>=0,64; <sup>[2]</sup>Ŷ=-1,8376x+613,33/R<sup>2</sup>=0,42; <sup>[3]</sup>Ŷ=5,1984x+207,85/R<sup>2</sup>=0,9; <sup>[4]</sup>Ŷ= 0,0003x2+0,0097x+3,7846/ R<sup>2</sup>=0,94; <sup>[5]</sup>Ŷ=-0,0016x2+ 0,0571x + 1,6989/ R<sup>2</sup> = 0,99; <sup>[6]</sup>Ŷ=0,0166x2 - 0,5353x + 42,021/R<sup>2</sup> =0,65; <sup>[7]</sup>Ŷ= 0,0051x2 + 0,1772x + 5,1811/R<sup>2</sup> = 0,68; <sup>[8]</sup>Ŷ=3,5536x + 226,07/R<sup>2</sup> = 0,88; <sup>[9]</sup>Ŷ= -0,0001x2+0,0038x+3,8431/R<sup>2</sup> = 0,76; <sup>[10]</sup>Ŷ=-0,0012x2 + 0,0444x + 1,8551/R<sup>2</sup> = 0,98; <sup>[11]</sup>Ŷ=0,1538x2 - 4,8662x + 355,98/R<sup>2</sup> = 0,64; <sup>[12]</sup>Ŷ=0,0422x2-1,08x + 938,2/ R<sup>2</sup> = 0,60; <sup>[13]</sup>Ŷ= -0,0221x2 + 0,7068x + 37,436/R<sup>2</sup> = 0,51; <sup>[14]</sup>Ŷ= -1,3613x + 650,23/R<sup>2</sup> = 0,72; <sup>[15]</sup>Ŷ=1,4947x+237,33/R<sup>2</sup> = 0,75; <sup>[16]</sup>Ŷ=-0,0002x2+ 0,0032x+3,9509/R<sup>2</sup>=0,66; <sup>[17]</sup>Ŷ=-0,002x2 + 0,0658x + 1,9891/R<sup>2</sup> = 0,98; <sup>[18]</sup>Ŷ=0,1097x2-2,863x + 330,63/R<sup>2</sup> = 0,34; <sup>[19]</sup>Ŷ=0,3332x+931,98/R<sup>2</sup> = 0,75; <sup>[20]</sup>Ŷ=-0,0237x2 + 0,5562x + 42,521/R<sup>2</sup> = 0,77; <sup>[21]</sup>Ŷ=-2,2496x + 685,42/R<sup>2</sup> = 0,64; <sup>[22]</sup>Ŷ=1,2005x + 387,48/ R<sup>2</sup> = 0,23; <sup>[23]</sup>Ŷ=2,3773x + 193,25/ R<sup>2</sup> = 0,74; <sup>[24]</sup>Ŷ=-0,0009x2+ 0,0251x+4,1769/R<sup>2</sup>=0,65; <sup>[25]</sup>Ŷ=-0,0001x2 + 0,0105x + 2,1551/ R<sup>2</sup> = 0,96; <sup>[26]</sup>Ŷ=0,0446x2 - 1,3929x + 943,64/ R<sup>2</sup> = 0,74; <sup>[27]</sup>Ŷ=-0,1241x2+5,8061x+373,9/ R<sup>2</sup>=0,87; <sup>[28]</sup>Ŷ=-0,0007x2+0,0288x+4,3189/R<sup>2</sup>=0,24; <sup>[29]</sup>=-0,0017x2+0,0546x+2,3769/R<sup>2</sup>=0,80.

563 Para a variável matéria orgânica houve efeito quadrático ( $P<0,05$ ) nos dias 6  
564 (12,80 g de tanino/kg de MN); 12 (15,61 g de tanino/kg de MN) de ponto de máxima. Já  
565 para a proteína bruta houve efeito quadrático ( $P<0,05$ ) nos dias 3, 6 e 9 com pontos de  
566 máxima de 16,12; 15,99 e 11,73 g de tanino/kg de MN respectivamente.

567 Houve efeito significativo ( $P<0,05$ ) para as variáveis fibras em detergente neutro  
568 (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), do dia 1 ao dia 9, e apenas 9 e 12 dias de  
569 exposição ao ar, respectivamente. Já em relação aos valores de CNF, houve efeito linear  
570 crescente ( $P<0,05$ ), do dia de exposição 1, 3, 6 e 9 (Tabela 6).

571 Em relação à produção de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) apresentou comportamento  
572 quadrático ( $P<0,05$ ) para todos os dias de exposição, com respectivos pontos máximos  
573 de 17,84; 18,5; 16,45; 52,5 e 16,05 g de tanino por kg de MN da silagem de sorgo  
574 (Tabela 6).

575

576 *3.3 Experimento 3: Digestibilidade in situ*

577

578 *3.3.1. Digestibilidade efetiva e potencial*

579

580 Em relação aos parâmetros da digestibilidade potencial e efetiva da matéria seca  
581 (MS) para as diferentes taxas de passagem da silagem de sorgo, não observou efeito  
582 significativo ( $P>0,05$ ) com a inclusão do tanino (Tabela 7).

583 **Tabela 7**

584 Digestibilidade efetiva e potencial da matéria seca, proteína bruta e fibra insolúvel em detergente neutro de silagem de sorgo com diferentes níveis  
 585 de tanino

586

Variável	Níveis de tanino g/kg MN					Contraste polinomial			
	0,0	7,5	15,0	22,5	30,0	EPM <sup>a</sup>	$\hat{Y}$	$L^b$	$Q^c$
	Matéria seca (g/kg)								
<b>Digestibilidade efetiva</b>									
2%/hora	52,28	51,66	52,35	51,92	52,12	0,13	52,07	0,945	0,557
5%/hora	40,11	39,95	40,25	40,33	40,55	0,14	40,24	0,093	0,548
8%/hora	34,53	34,50	34,57	34,68	34,81	0,13	34,62	0,310	0,678
Digestibilidade potencial	52,28	51,66	52,35	51,92	52,12	0,13	52,06	0,945	0,557
<b>Proteína bruta (g/kg)</b>									
<b>Digestibilidade efetiva</b>									
2%/hora	52,13	54,74	54,74	54,96	49,99	0,55	[1]	0,008	<0,001
5%/hora	40,84	45,04	45,37	46,50	39,65	0,75	[2]	0,512	<0,001

8%/hora	36,33	41,12	41,35	42,65	35,24	0,82	[3]	0,667	<,001
Digestibilidade potencial	52,13	54,73	54,74	54,96	49,98	0,55	[4]	0,008	<,001

Fibra em detergente neutro (g/kg)

Digestibilidade efetiva									
2%/hora	46,22	45,46	51,20	56,77	49,76	1,09	[5]	<,001	<,001
5%/hora	30,46	31,28	39,31	44,50	37,00	1,41	[6]	<,001	<,001
8%/hora	23,72	23,77	32,59	36,71	30,25	1,39	[7]	<,001	0,004
Digestibilidade potencial	46,22	45,46	51,20	56,76	49,76	1,09	[8]	<,001	<,001

587 <sup>a</sup> Erro padrão da média; <sup>b</sup> Efeito Linear; <sup>c</sup> Efeito quadrático; <sup>[1]</sup> $\hat{Y} = -0,1897x^2 + 5,1501x + 519,9 / R^2 = 0,91$ ; <sup>[2]</sup> $\hat{Y} = -0,2705x^2 + 7,9916x + 406,21 /$   
588  $R^2 = 0,88$ ; <sup>[3]</sup> $\hat{Y} = -0,2963x^2 + 8,801x + 361,35 / R^2 = 0,88$ ; <sup>[4]</sup> $\hat{Y} = -0,1898x^2 + 5,1526x + 519,86 / R^2 = 0,91$ ; <sup>[5]</sup> $\hat{Y} = -0,1609x^2 + 7,2787x + 443,94 /$   
589  $R^2 = 0,55$ ; <sup>[6]</sup> $\hat{Y} = -0,2474x^2 + 10,928x + 284,67 / R^2 = 0,71$ ; <sup>[7]</sup> $\hat{Y} = -0,225x^2 + 10,217x + 216,77 / R^2 = 0,70$ ; <sup>[8]</sup> $\hat{Y} = -0,1608x^2 + 7,2735x + 443,95 /$   
590  $R^2=0,55$ .

591            Já em relação à digestibilidade efetiva e potencial da proteína bruta e da fibra em  
592            detergente neutro apresentaram efeito significativo ( $P<0,05$ ) da silagem de sorgo com a  
593            inclusão dos diferentes níveis de tanino.

594

595            **4. Discussão**

596            A inclusão do tanino favoreceu uma faixa de pH adequado, que é um dos  
597            parâmetros importante para indicar a qualidade da silagem (Van Soest, 1994; Monteiro  
598            et al., 2011; Oliveira et al., 2012; Jobim e Nússio, 2014), sinalizando um processo de  
599            fermentação adequada da silagem, que de acordo com McDonald et al. (1991), para que  
600            isso ocorra, o pH deve situar-se na faixa considerada ótima de 3,8 a 4,2; além disso, o  
601            tanino elevou a qualidade da silagem, tendo em vista que foi verificado uma redução da  
602            proteólise, pois além de ter aumentado os níveis de taninos condensados ligados a  
603            proteína (Tabela 1), houve uma variação quadrática positiva observada na proteína bruta  
604            da silagem (Tabela 3), redução do nitrogênio amoniacal (Tabela 4) e, adicionalmente,  
605            ausência de variação nas perdas por efluentes (Tabela 3).

606            A redução na proteólise severa é um efeito comum quando se utilizam taninos  
607            como aditivos em silagem (Salawu et al., 1999; Kondo et al., 2004; Tabacco et al.,  
608            2006; Teixeira et al., 2014). Tal redução ocorre devido à proteção contra a degradação  
609            da proteína da silagem durante a fermentação, conferida tanto pela ligação que ocorre  
610            entre os taninos e as proteínas, como pela inibição das enzimas microbianas e das  
611            plantas Makkar (2003), tornando-as indisponíveis para fermentação microbiana.

612            É possível observar que no nível mais alto de inclusão de tanino ocorreram  
613            maiores perdas de nitrogênio amoniacal ( $N-NH_3$ ); por outro lado, quando foi registrada  
614            redução no  $N-NH_3$ , paralelamente houve um aumento na proteína bruta (PB) da silagem.  
615            Isso ocorre devido à relação direta que há entre proteólise e produção de  $N-NH_3$

616 (McDonald, 1981; AFRC, 1987). Isso pode ter ocorrido pela diminuição de bactérias  
617 proteolíticas ou aumento do número de bactérias gram-negativas pelo uso do tanino, que  
618 aumentou a utilização de nitrogênio por causa da elevação de sua multiplicação, e com  
619 isso ocorreu aumento na produção de N-NH<sub>3</sub>. Apesar da discreta elevação verificada  
620 com o maior nível de tanino (8,43, %) o valor de N-NH<sub>3</sub> ficou bem abaixo dos 15%  
621 indicativo de proteólise extensa, e que conteúdo máximo de N-NH<sub>3</sub>/NT de 8 a 11%, é  
622 indicativo de um processo fermentativo eficiente AFRC (1987) como o verificado neste  
623 trabalho.

624 Adicionalmente, a inclusão do tanino favoreceu os ácidos orgânicos, uma vez  
625 que houve melhora nas concentrações, primeiramente do ácido propiônico, que em  
626 ruminantes, sabidamente pode levar a uma melhora na produção de leite e carne,  
627 aumentando-a (Aschenbach et al., 2010; Hammon et al., 2010; Ferreira de Jesus et  
628 al., 2016) sem, necessariamente, elevar o consumo de matéria seca (Allen, 2000).  
629 Embora haja relato na literatura sobre os efeitos hipofágicos do ácido propiônico, em  
630 alguns casos, tal efeito não foi verificado (DeJong et al., 1981; Anil et al., 1993), pois  
631 para ocorrer os efeitos hipofágicos do propionato é necessário que se exceda certo  
632 limite, tendo em vista que em dietas a base de grãos, que são alimentos mais facilmente  
633 fermentáveis, nem sempre a ingestão de matéria seca diminui (Oba e Allen, 2003).

634 A melhora na produção de ácido propiônico pode estar relacionada a uma  
635 mudança no tipo de bactérias que prevalecem durante a fermentação, como as bactérias  
636 ácido láticas (BAL) heterofermentativas, e junto com o ácido láctico e ácido acético (que  
637 é mais efetivo), são eficientes em melhorar a estabilidade aeróbica da silagem (Kung et  
638 al., 2000; Carvalho et al., 2014; Schmidt et al., 2014), porque uma maior proporção do  
639 acetato não é dissociada e, aliado ao ácido láctico, podem penetrar a membrana  
640 plasmática bacteriana devido propriedades lipofílicas que possuem (Neto, 2018).

641 Em segundo lugar, o nível elevado de tanino proporcionou um aumento  
642 substancial do ácido láctico comparado ao tratamento controle (Tabela 3). O lactato é o  
643 principal ácido orgânico responsável pela queda no pH (Santos et al., 2010; Resende et  
644 al., 2011), cujo comportamento acompanhou a fermentação da matéria seca (MS). É  
645 produzido tanto pelas bactérias ácido lálicas (BAL) homofermentativas (85% de ácido  
646 láctico), como pelas bactérias ácido lálicas heterofermentativas durante a fase inicial da  
647 fermentação, cuja produção diminui as enterobactérias, que são sensíveis ao  
648 abaixamento do pH, e que representam as principais competidoras por substratos com as  
649 BAL (Pitt e Snifen, 1985).

650 Embora os carboidratos não fibrosos (CNF) sejam os principais carboidratos  
651 precursores de lactato (Carvalho et al., 2008), as bactérias ácido lálicas  
652 heterofermentativas facultativas ou obrigatórias, ainda que não sejam as principais, são  
653 capazes de produzir ácido láctico a partir de hexoses e pentoses, ainda que em menor  
654 quantidade, porquanto 85% do ácido láctico tem como origem a fermentação de açúcares  
655 por artes da bactérias ácido lálicas homofermentativas obrigatórias (Hammes et al.,  
656 1992).

657 As pentoses podem ter sido originadas a partir da fermentação da fibra em  
658 detergente neutro (FDN), mais especificamente a partir da hidrólise ácida da fração  
659 hemicelulose que diminuiu linearmente com os níveis de tanino (Tabelas 4). Assim,  
660 mudanças na hemicelulose da silagem podem ter ocorrido em função da presença de  
661 elevada concentração do ácido láctico (Litchfield, 2009), uma vez que, durante a  
662 hidrólise ácida da fração hemicelulose ocorre liberação de pentoses e hexoses, que  
663 podem ser fermentadas pelas bactérias, utilizando-se desses carboidratos, como fonte de  
664 substrato para a fermentação (Muck, 2010). Adicionalmente, a hidrólise enzimática das

665 células vegetais, que ocorre no início da fase fermentativa, também contribui para a  
666 conversão de amido e hemicelulose a monossacarídeos (Pitt e Snifen, 1985).

667 Isso explica, pelo menos em parte, o fato de se obter baixos e adequados valores  
668 de pH, ainda que a fração CNF não tenha apresentado variação com os níveis de tanino.  
669 Por outro lado, a fração CNF sofreu uma redução de 12,22% da planta ensilada  
670 comparado com o CNF do material ensilado (Tabelas 2 e 4), contribuindo para baixos  
671 valores de pH.

672 A fermentação da FDN é um exemplo de como a matéria seca (MS) pode ser  
673 reduzida pela ação dos microrganismos da silagem. A fermentação da MS e sua  
674 consequente diminuição é um evento comum observado em silagens; entretanto, a  
675 adição de alto nível de tanino (30 g/kg de MN) evitou perdas da MS (Tabela 4), que é  
676 um ponto positivo, pois protegeu da fermentação (conservando) maior quantidade de  
677 nutrientes. Esse efeito poupadour de MS, sem que a fermentação fosse prejudicada, pode  
678 ser constatado, por exemplo, pela redução na produção dos gases da silagem (que é um  
679 indicativo de redução da massa ensilada) quando se adicionou tanino no nível de 30  
680 g/kg de MN, assim como pela tendência de linearidade crescente observada na  
681 recuperação da matéria seca RMS (Tabela 3) com a elevação nos níveis de tanino.

682 De modo semelhante ao ocorrido com a MS da amostra ensilada, o alto nível de  
683 tanino evitou maiores perdas de MS das amostras desensiladas para a maioria dos dias  
684 de avaliação da estabilidade aeróbica (Tabela 6). A variação quadrática negativa  
685 observada na MS ocorreu, principalmente, devido à oxidação da FDN, que apresentou  
686 uma redução linear ao longo da estabilidade aeróbica (EA) com exceção do dia 12, e de  
687 modo semelhante ao que ocorreu na fase fermentativa da ensilagem, foi o principal  
688 nutriente oxidado, pois redução na proteína bruta (PB) foi verificada apenas no terceiro  
689 dia de avaliação (Tabela 6).

690 Segundo Mcdonald et al. (1991), a deterioração da FDN ocorre em estágio  
691 avançado, o que neste trabalho foi verificado desde os primeiros dias; ainda segundo  
692 esses autores, verifica-se aumento do pH, que nesta pesquisa, praticamente foi  
693 observado a partir do nono dia de avaliação, porém de modo discreto, evidenciando o  
694 efeito protetor conferido pelos taninos. Essa variação no pH ocorreu porque leveduras  
695 utilizadoras de ácidos são capazes de utilizar o lactato quando a silagem é exposta ao ar,  
696 oxidando-o, principalmente em silagem com MS mais elevada (Woolford, 1990), e num  
697 segundo momento, bactérias aeróbicas do gênero *Acetobacter* podem iniciar a  
698 deterioração aeróbia de silagens (Kung, 2003). Todavia, como pode ser observado ao  
699 longo de toda avaliação da estabilidade aeróbica (Tabela 6), o alto nível de tanino  
700 proporcionou redução no valor do pH, possivelmente devido seu efeito inibidor sobre a  
701 oxidação das amostras expostas ao ar. Isso resultou em redução nas perdas e  
702 conservação da silagem, mesmo aos 12 dias de exposição.

703 A variação discreta observada no valor do pH pode estar relacionado aos baixos  
704 valores alcançados durante a fase fermentativa, pois apesar de microrganismos  
705 aeróbicos oxidar lactato, pH limita crescimento microbiano durante a estabilidade  
706 aeróbica (Muck et al., 1992). Por sua vez, tanto o baixo pH, como também a melhora  
707 dos ácidos acético e lático, conseguidos com os níveis crescentes de tanino, podem ter  
708 contribuído com a melhora na estabilidade aeróbica das silagens, pois sabidamente  
709 conferem essa característica as mesmas (Danner et al., 2000; Kung et al., 2003;  
710 Jayanegara et al., 2019) ao atuarem diretamente sobre a membrana plasmática.

711 Essa melhora na estabilidade aeróbica fica evidente quando se observa a  
712 diminuição na liberação de CO<sub>2</sub> nos níveis mais elevados de tanino, que influenciou a  
713 produção desse gás, diminuindo-a (Tabela 6), cujos valores ao longo de toda avaliação,  
714 situaram-se bem abaixo do recomendado por Weinberg et al. (2011) de até 10 g de

715 CO<sub>2</sub> kg na MS. Vale lembrar que CO<sub>2</sub> é um dos produtos da oxidação dos nutrientes da  
716 silagem, e sua redução representa vantagem do ponto de vista nutricional e econômico.

717 Os níveis de tanino foram eficientes em melhorar as digestibilidades da PB e  
718 FDN. Isso ocorreu porque taninos apresentam efeito seletivo sobre as bactérias  
719 ruminais, selecionando as Gram negativas (Smith et al., 2005; Bodas et al., 2012), que  
720 são mais eficientes do ponto de vista energético, porque desperdiçam menos energia e  
721 nitrogênio durante seu metabolismo.

722 Quando ruminantes são alimentados com alta concentração de nitrogênio (25-35  
723 g/kg MS) a maioria das proteínas são rapidamente solubilizada e degradada por  
724 microrganismos ruminais, mas a presença do tanino pode melhorar o metabolismo  
725 proteico no rúmen, reduzindo a degradação pela formação de um complexo que diminui  
726 a solubilidade da proteína (Patra et al., 2011; Kumar et al., 2014); essa melhor eficiência  
727 proporciona um maior crescimento e utilização dos substratos (Alves Junior et al.,  
728 2017); além disso, são auxiliadas pela redução das bactérias Gram positivas que são  
729 mais sensíveis aos taninos (Patra e Saxena, 2011; Thao et al., 2015).

730 Adicionalmente, a melhora na digestibilidade dos nutrientes ocorre porque  
731 taninos reduzem protozoários (Alves Junior et a., 2017), que por sua vez competem  
732 nutricionalmente com as bactérias, além disso, promove sua fagocitose; mas não são  
733 eficientes nutricionalmente como as bactérias (Bodas et al., 2012).

734 É comum ocorrer redução nas médias à medida que se eleva os valores das taxas  
735 de passagem (2%, 5% e 8%) na digestibilidade efetiva. Isso ocorre devido ao menor  
736 tempo de exposição das amostras ao ataque e digestão microbiana. Entretanto, os  
737 valores das digestibilidades dos nutrientes estão de acordo com dados publicados na  
738 literatura (Magalhães et al., 2005; Benchaar et al., 2008; Oliveira et al., 2009; Caçao et  
739 al., 2012)

740 Sendo assim, os níveis de tanino que foram utilizados na silagem neste estudo  
741 foram suficientes para causar alterações positivas nas digestibilidades da PB e FDN, o  
742 que corrobora para ratificar o uso de taninos condensados como aditivos em silagens.

743

744 **5. Conclusão**

745

746 Recomenda-se a inclusão em até 30 g/kg MN do tanino condensado como  
747 aditivo na silagem de sorgo para melhorar os padrões fermentativos e sua  
748 digestibilidade *in situ*.

749

750

751 **Referências**

752

753 AFRC. 1987. Technical committee on responses to nutrients. Report n. 2.  
754 Characterization of feedstuffs. Nutr. Abstr. Rev. 57, 713– 736.

755 AFRC, 1993. Agricultural and Food Research Council, 1993. Energy and Protein  
756 Requirements of Ruminants, Technical Committee on Responses to Nutrients, CAB  
757 International, Wallingford, UK.

758 Allen, M.S., 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating  
759 dairy cattle. J. Dairy Sci. 83, 1598–1624. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75030-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2).

761 Alves Júnior, R.T., Souza, E.J.O., Melo, A.A.S., Silva, D.K.A., Torres, T.R., Pereira,  
762 G.F.C., Silva, C.S., Silva, J.C.S., 2017. Mesquite extract as phytogenic additive to  
763 improve the nutrition of sheep. J. Agric. Sci. 9, 164-174.

764 AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical  
765 Chemists. Washington, D.C.

766 Aschenbach, J.R., Kristensen, N.B., Donkin, S.S., Hammon, H.M., Penner, G.B.,  
767 2010. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from  
768 sour dough. *IUBMB Life* 62, 869–877, <http://dx.doi.org/10.1002/iub.400>.

769 Ashbell, Z.G., Weinberg, A., Azrieli, Y.H., Horev, B., 1990. A simple system to study  
770 the aerobic determination of silages. *Technical Notes. Can. Agric. Eng.* 33, 391-393.

771 Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., 2008. A review of plant-derived essential  
772 oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 209–228.  
773 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014>.

774 Bodas, R., Prieto, N., García-Gonzáles, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., López, S., 2012.  
775 Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary  
776 metabolites. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176, 78–93.  
777 <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>.

778 Bolsen, K.K., Lin, C., Brent, B. E., Feyerherm, A.M., Urban, J.E., Aimutis, W.R., 1992.  
779 Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of  
780 alfalfa and corn silages. *J. Dairy Sci.* 75, 3066-3083.  
781 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78070-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78070-9).

782 Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R.J., Holmes, B.J., Muck, R.E., 2018. Silage  
783 review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *J. Dairy Sci.* 101,  
784 3952-3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>.

785 Caçao, M.M.F., Costa, C., Meirelles, P.R.L., Ezequiel, J.M.B., Galati, R.L., Silva,  
786 M.G.B., 2012. Ruminal dry matter degradability of corn and sorghum grains at high  
787 or low tannin contents submitted to processing. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 13,  
788 516-528.

789 Carvalho, G.G.P., Garcia, R., Pires, A.J.V., Pereira, O.G., Fernandes, F.E.P., Carvalho,  
790 B.M.A. 2008. Fermentation characteristics of silage of elephantgrass wilted or with  
791 addition of cocoa meal. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60, 234-242.

792 Carvalho, B.F., Ávila, C.L.S., Pinto, J.C., Neri, J., 2014. Schwan, R.F. Microbiological  
793 and chemical profile of sugar cane silage fermentation inoculated with wild strains of  
794 lactic acid bacteria. Anim. Feed Sci. Technol. 195, 1-13.  
795 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.04.003>.

796 Danner, H., Holzer, M., Mayrhuber, E., Bran, R., 2003. Acetic acid increases stability  
797 of silage under aerobic conditions. Appl. Environ. Microbiol. 69, 562-567.  
798 <https://doi.org/10.1128/AEM.69.1.562-567.2003>.

799 Deaville, E. R., Givens, D.I., Mueller-Harvey, I., 2010. Chestnut and mimosa tannin  
800 silages: Effects in sheep differ for apparent digestibility, nitrogen utilisation and  
801 losses. Anim. Feed Sci. Technol. 157, 129-138.  
802 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.02.007>.

803 DeJong, A., Steffens, A. B., De Ruiter, L., 1981. Effects of portal tile fatty acid  
804 infusions on meal patterns and blood composition in goats. Physiol. Behav. 27, 683–  
805 689. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(81\)90241-9](https://doi.org/10.1016/0031-9384(81)90241-9).

806 Ferreira de Jesus, E., Del Valle, T.A., Calomeni, G.D., Silva, T.H., Takiya, C.S.,  
807 Vendramini, T.H.A., Paiva, P.G., Silva, G.G., Netto, A.S., Rennó, F.P., 2016.  
808 Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and  
809 digestibility, ruminal fermentation and  
810 milk production of dairy cows. Anim. Feed Sci. Tech. 219, 59–67.  
811 <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.003>.

- 812 Hall, M.B., 2000. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that  
813 contain non-protein nitrogen (Bulletin, 339, pp. 25-34). Gainesville: University of  
814 Florida.
- 815 Hammon, H.M., Metges, C.C., Schulz, A., Junghans, P., Steinhoff, J., Schneider,  
816 F., Pfuhl, R., Bruckmaier, R.M., Weikard, R., Kuhn, C., 2010. Differences in  
817 milk production, glucose metabolism, and carcass composition of 2 charolais ×  
818 holstein F2 families derived from reciprocal paternal and maternal grandsire  
819 crosses. *J. Dairy Sci.* 93, 3007–30018, <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2931>.
- 820 He, L., Lv, H., Chen, N., Wang, C., Zhou, W., Chen, X., Zhang, Q., 2020. Improving  
821 fermentation, protein preservation and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves  
822 silage with gallic acid and tannin acid. *Bioresour. Technol.* 297, 122390.  
823 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122390>.
- 824 Jayanegara, A., Sujarnoko, T.U., Ridla, M., Kondo, M., Kreuzer, M., 2019. Silage  
825 quality as influenced by concentration and type of tannins present in the material  
826 ensiled: A meta-analysis. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 103, 456-465.  
827 <https://doi.org/10.1111/jpn.13050>.
- 828 Kumar, K., Chaudhary, L.C., Kumar, S., 2014. Exploitation of tannins to modulate  
829 rumen ecosystem and ruminants performance: A review. *Indian J. Anim. Sci.* 84,  
830 609–618.
- 831 Kung Jr., L., 1996. Preparation of silage water extracts for chemical analyses. Standard  
832 operating procedure – 001 2.03.96. ed. Delaware: University of Delaware –  
833 Ruminant Nutrition Lab. 32.
- 834 Kung Jr., L., Robinson, J.R., Ranjit, N.K., Chen, J.H., Golt, C.M., Pesek, J.D., 2000.  
835 Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage

- 836 treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *J Dairy Sci* 83:1479–  
837 1486. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75020-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75020-X).
- 838 Kung Jr., L., Stokes, M.R., Lin, C.J., 2003. Silage additives, In: Buxton, D.R., Muck,  
839 R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*. American Society of  
840 Agronomy, Madison, pp. 305-360.
- 841 Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J., 1996. Standardization of procedures for  
842 nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Tech.* 57, 347-358.  
843 [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3).
- 844 Linden, J.C., Moreira, A.R., Smith, D.H., Hedrick, W.S., 1980. Enzymatic hydrolysis of  
845 the lignocellulosic component from vegetative forage crops. *Biotechnol. Bioeng.*  
846 *Symp.* 10, 199-212.
- 847 Magalhães, R.T., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Borges, I., Rodrigues, N.M.,  
848 Saliba, E.O.S., Borges, A.L.C.C., Araújo, V.C., 2005. Estimation of ruminal  
849 degradability of four genotypes of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) using in  
850 situ technique. *Acta Sci. Anim. Sci.* 27, 483-490.
- 851 Makkar, H.P.S., 2003. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to  
852 tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich  
853 feeds. *Small Rumin. Res.* 49, 241-256. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1).
- 855 McDonald, P., 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in  
856 rumen. *J. Agric. Sci.* 96, 251-252. <https://doi.org/10.1017/S0021859600032081>.
- 857 McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S.J.E., 1991. *The biochemistry of silage*,  
858 second ed. Chalcombe Publications, Marlow, England.
- 859 Mizubuti, I.Y., Pinto, A.P., Pereira, E.S., Ramos, B.M.O., 2009. *Métodos laboratoriais*  
860 de avaliação de alimentos para animais. Londrina: Eduel. 228p.

- 861 Monteiro, I.J.G., Abreu, J.G.; Cabral, L.S.; Ribeiro, M.D.; Reis, R.H.P., 2011. Elephant  
862 grass silage with added alternative products. *Acta Sci. Anim. Sci.* 33, 347-352,  
863 <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v33i4.12629>.
- 864 Muck, R.E., 2010. Silage microbiology and its control through additives. *R. Bras.  
865 Zootec.* 39, 183-191. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300021>.
- 866 Nocek, J.E., 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy  
867 digestibility: a review. *J. Dairy Sci.* 71, 2051-2069.  
868 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79781-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79781-7).
- 869 Oba, M., Allen, M.S., 2001. Intraruminal infusion of propionate alters feeding behavior  
870 and decreases. *J. Nutr.* 133, c-1099. <https://doi.org/10.1093/jn/133.4.1094>.
- 871 Oliveira, A.C., Garcia, R., Pires, A.J.V., Oliveira, H.C., Almeida, V.V.S., Veloso, C.M.,  
872 Rocha Neto, A.L., Oliveira, U.L.C., 2012. Cassava meal in the elephant grass silage:  
873 carbohydrate and protein fractioning and fermentation characteristics of silage  
874 elephant grass. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 13, 1020-1031.
- 875 Orskov, E.R., McDonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen  
876 from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.*  
877 92, 499-508. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>.
- 878 Patra, A. K., Saxena, J., 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen  
879 metabolism and ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 91, 24-37.  
880 <https://doi.org/10.1002/jsfa.4152>.
- 881 Patra, A.M., Min, B.R., Saxena, J., 2012. Dietary Tannins on Microbial Ecology of the  
882 Gastrointestinal Tract in Ruminants, in: Patra A.K. (Eds.), Diet phytochem microbes.  
883 Springer Netherlands, Dordrecht.
- 884 Rezende, A.V., Rabelo, C.H.S., Rabelo, F.H.S., Nogueira, D.A., Faria Jr, D.C.N.A.,  
885 Borbosa, L.A., 2011. Fermentation losses and aerobic stability of sugarcane silages

- 886 treated with whitewash and sodium chlorite. R. Bras. Zootec. 40, 739-  
887 746. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000400006>.
- 888 Salawu, M. B., Acamovic, T., Stewart, C.S., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R., 1999.  
889 The use of tannins as silage additive: effect on silage composition and mobile  
890 bag disappearance of dry matter and protein. Anim. Feed Sci. Technol. 82, 243-  
891 259. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00105-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00105-4).
- 892 Santos, R.D., Pereira, L.G.R., Neves, A.L.A., Araújo, G.G.L., Voltolini, T.V., Brandão,  
893 L.G.N., Aragão, A.S.L., Dórea, J.R.R. 2010. Fermentation parameters of silages of  
894 six maize varieties recommended for the Brazilian semi-arid region. Arq. Bras. Med.  
895 Vet. Zootec. 62, 1423-1429.
- 896 Senger, C.C.D., Kozloski, G.V., Sanchez, L.M.B., Mesquita, F.R., Alves, T.P.,  
897 Castagnino, D.S., 2008. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in  
898 forage and concentrate feedstuffs. Anim. Feed Sci. Technol. 146, 169–174.  
899 <https://doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.12.008>.
- 900 Smith, A.H., Zoetendal, E., Mackie, R.I., 2005. Bacterial mechanisms to overcome  
901 inhibitory effects of dietary tannins. Microb. Ecol. 50, 197–205.  
902 <https://doi:10.1007/s00248-004-0180-x>.
- 903 Schmidt, R.J., Kung Jr., L., 2010. The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without  
904 a homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages  
905 made at different locations. J. Dairy Sci. 93 :1616–1624.  
906 <https://doi:10.3168/jds.2009-2555>.
- 907 Sniffen, C. J, O'Connor, J. D., Van Soest, P. J., 1992. A net carbohydrate and protein  
908 system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. Journal  
909 of Animal Science. 70, 12, 3562-3577. <https://doi.org/10.2527/1992.70113562x>.

## I. ANEXO

Tabela 3A. Perdas e perfil fermentativos de silagem de sorgo com diferentes níveis de inclusão tanino

TRAT	REPETIÇÃO	Perdgases	Perdefluentes	Recuperacao	pH	AcetgMS	ButgMS	propgMS	LatgMS	total	NH3
0	1	0,8	309,29	102,04	3,75	20,34	0,21	1,85	356,78	379,18	8,87
0	2	2,14	325,68	99,23	3,76	20,47	0,02	1,33	440,24	462,06	7,63
0	3	3,59	346,58	103,9	3,83	17,87	0,02	0,93	204,34	223,16	8,90
0	4	2,1	322,8	97,86	3,8	20,62	0,03	0,82	232,32	253,78	7,67
0	5	0,85	319,08	106,02	3,77	18,94	0,05	0,91	198,43	218,33	8,75
7,5	1	1,25	340,87	92,9	3,92	14,06	2,73	12,82	167,57	197,18	7,12
7,5	2	3,37	327,39	93,2	3,85	13,41	0,19	2,12	180,17	195,89	8,42
7,5	3	3,04	337,52	100,47	3,9	14,45	0,21	2,10	161,74	178,50	7,93
7,5	4	5,72	315,9	91,89	3,86	10,45	0,16	1,87	217,41	229,89	8,17
7,5	5	2,52	324,03	93,49	3,87	16,06	1,15	5,63	208,17	231,01	7,24
15	1	3,1	343,7	101,97	3,92	9,71	1,42	14,18	158,92	184,23	8,09
15	2	3,29	321,68	99,67	3,89	8,32	1,55	17,18	252,90	279,96	9,37
15	3	3,82	324,12	97,37	3,91	6,88	1,33	7,62	193,81	209,64	8,24
15	4	4,71	331,43	97,08	3,93	11,30	4,28	23,15	233,92	272,65	8,29
15	5	3,72	330,38	96,25	3,92	8,38	2,51	13,45	180,72	205,07	7,28
22,5	1	4,8	337,45	94,69	3,92	4,78	2,01	14,33	172,76	193,88	8,00
22,5	2	3,37	324,4	94,01	3,9	2,60	1,73	17,75	139,14	161,22	8,97
22,5	3	3	326,08	94,04	3,9	8,52	3,00	15,40	137,37	164,29	8,27
22,5	4	2,15	332,74	92,77	3,94	18,06	8,81	44,71	285,26	356,84	7,21
22,5	5	4,7	295,51	93,27	3,88	18,82	8,10	44,17	367,37	438,46	8,28
30	1	3,91	335,34	101,72	3,71	21,34	6,93	49,48	415,99	493,73	7,80

30	2	2,95	325,83	102,81	3,8	22,16	5,44	55,71	480,76	564,07	8,83
30	3	3,74	322,58	92,8	3,95	17,22	5,89	77,02	465,85	565,98	8,92
30	4	4,67	324,49	102,69	3,97	20,70	7,99	52,46	360,31	441,45	8,86
30	5	2,48	328,19	95,96	3,92	15,73	7,83	46,87	363,77	434,19	7,74

Tabela 4A. Composição bromatológica de silagem de sorgo com diferentes níveis de inclusão de tanino

TRAT	REPETIÇÃO	MS	MO	PB	FDNcp	FDA	CHOT	CNF	HEM	CEL	LIG	PIDIN
0	1	346,42	895,92	50,48	527,56	323,01	58,89	262,04	246,22	281,78	41,23	15,89
0	2	337,10	895,69	51,38	545,67	334,80	59,81	236,12	260,00	291,47	43,32	18,72
0	3	358,02	893,81	50,36	566,02	346,99	57,86	212,42	271,05	301,14	45,84	13,03
0	4	332,67	895,00	51,09	561,85	339,64	60,23	219,59	270,73	296,37	43,27	12,12
0	5	357,84	895,24	51,21	554,08	342,81	57,85	238,20	250,55	300,58	42,22	12,15
7,5	1	320,00	889,95	55,06	545,37	341,02	61,11	214,91	265,12	301,49	39,53	18,64
7,5	2	321,85	895,19	53,23	522,10	329,86	60,77	257,52	237,31	284,14	45,72	17,69
7,5	3	345,81	892,00	56,47	574,59	370,20	58,32	225,29	225,51	328,54	41,65	15,29
7,5	4	320,46	898,67	54,86	498,86	351,00	60,92	275,24	202,10	305,36	45,65	13,68
7,5	5	321,64	897,67	54,11	529,07	367,23	61,09	261,33	201,65	325,19	42,04	11,18
15	1	348,25	891,52	55,35	564,45	335,23	57,89	221,03	262,38	291,78	43,45	14,06
15	2	342,98	894,08	53,79	519,80	355,29	58,62	277,88	190,09	314,23	41,06	18,25
15	3	334,06	868,89	54,40	615,33	396,28	59,68	123,10	280,41	353,45	42,83	12,49
15	4	337,01	889,96	54,04	542,89	342,88	59,40	233,35	244,78	300,95	41,93	12,09
15	5	335,84	897,72	53,84	487,45	313,35	59,24	305,51	207,08	269,97	43,38	10,54
22,5	1	329,61	886,51	56,01	573,80	357,26	59,89	202,57	255,17	316,15	41,11	13,54
22,5	2	322,74	893,01	56,16	479,64	333,44	60,24	295,98	188,77	292,85	40,59	17,47
22,5	3	322,13	880,25	54,20	613,96	406,02	60,73	136,93	266,76	361,23	44,78	12,55
22,5	4	319,83	892,64	54,39	469,62	346,23	60,82	256,04	218,45	303,91	42,32	13,91

22,5	5	320,42	891,71	54,09	513,85	327,62	60,94	293,00	200,94	287,43	40,19	12,16
30	1	350,44	881,84	50,27	528,92	359,51	58,45	240,91	216,33	317,15	42,36	13,58
30	2	351,84	885,80	50,75	513,23	365,87	58,46	244,22	212,14	325,49	40,38	15,58
30	3	321,40	896,06	50,22	486,38	331,46	61,49	302,50	198,44	287,48	43,97	14,38
30	4	354,16	888,27	50,55	537,61	350,44	58,20	252,03	221,98	308,46	41,98	15,01
30	5	332,63	897,92	50,64	468,85	336,59	60,21	340,16	155,93	292,86	43,74	10,65
PIDA	CHOT_AB1	CHOT_B2	CHOT_C	Nit_A	Nit_B1B2	Nit_B3	Nit_C					
16,83	262,04	473,12	54,44	594,91	311,35	1,06	92,68					
17,74	236,12	484,17	61,50	602,61	290,76	1,98	104,64					
13,03	212,42	493,39	72,63	609,35	314,48	1,00	75,17					
14,92	219,59	497,62	64,23	353,73	576,82	1,20	68,25					
13,97	238,20	492,40	61,68	399,84	525,16	0,18	74,82					
15,77	214,91	488,33	57,04	529,05	369,52	2,87	98,56					
19,64	257,52	464,01	58,09	423,13	477,07	2,05	97,76					
15,30	225,29	513,76	60,83	679,15	235,74	1,99	83,11					
13,71	275,24	443,85	55,01	325,55	594,05	0,97	79,42					
15,85	261,33	475,63	53,45	490,98	440,89	0,33	67,81					
17,83	221,03	500,12	64,33	402,26	511,09	0,23	86,42					
14,61	277,88	469,80	50,00	326,99	578,06	3,64	91,31					
17,71	123,10	536,47	78,86	565,38	360,68	0,78	73,16					
19,62	233,35	484,39	58,50	533,74	393,19	0,48	72,60					
15,90	305,51	439,84	47,61	474,35	462,50	0,52	62,62					
18,35	202,57	512,01	61,79	438,83	488,04	2,19	70,94					
12,86	295,98	435,55	44,09	636,16	278,87	4,62	80,35					
20,86	136,93	533,85	80,10	347,34	577,86	0,69	74,11					
18,55	256,04	416,37	53,25	610,86	309,36	1,36	78,42					
16,89	293,00	469,63	44,22	461,97	468,72	1,27	68,04					

20,39	240,91	471,25	57,68	436,66	484,69	1,19	77,46
20,50	244,22	457,84	55,39	363,61	544,66	1,07	90,65
17,94	302,50	438,19	48,19	343,55	568,87	0,43	87,15
20,65	252,03	480,88	56,73	565,20	342,90	0,36	91,54
14,27	340,16	426,56	42,29	378,69	555,69	0,18	65,44

Tabela 6A. Composição química e estabilidade aeróbica de silagem sorgo com níveis de tanino em diferentes dias de exposição ao ar

trat	dia	rep	CO2	MS	MM	MO	PB	FDN	FDA	CHOT	CNF
0	1	1	1,83	370,77	60,17	939,83	38,98	597,16	427,50	583,31	296,75
0	1	2	1,38	461,94	58,94	941,06	36,83	600,93	470,32	495,85	297,92
0	1	3	1,78	364,07	55,97	944,03	36,85	583,11	348,86	593,65	318,64
0	1	4	1,72	368,22	58,56	941,44	43,62	583,14	333,36	581,67	308,18
0	1	5	1,81	356,25	55,82	944,18	38,70	603,62	364,46	597,52	294,33
0	3	1	1,86	356,22	63,16	936,84	44,13	579,16	314,11	593,67	307,56
0	3	2	1,83	358,54	62,74	937,26	46,97	607,40	368,94	590,19	278,59
0	3	3	1,96	332,30	57,63	942,37	37,43	652,83	375,72	624,67	246,50
0	3	4	1,84	359,70	62,16	937,84	33,81	617,82	361,64	600,75	280,48
0	3	5	1,90	352,52	60,81	939,19	45,86	617,97	375,94	595,98	269,72
0	6	1	2,12	336,06	59,94	940,06	35,34	647,08	371,14	624,01	253,05
0	6	2	2,09	337,27	59,42	940,58	33,51	667,39	389,53	623,58	234,04
0	6	3	2,12	335,01	60,97	939,03	35,22	647,85	374,57	623,23	249,42
0	6	4	1,53	466,91	58,02	941,98	41,10	653,65	379,28	485,81	241,06
0	6	5	2,03	345,91	57,29	942,71	34,56	662,29	381,89	613,69	240,02
0	9	1	2,25	337,97	60,40	939,60	36,30	653,32	370,65	620,10	244,34
0	9	2	2,11	360,28	60,60	939,40	40,14	684,09	380,10	592,94	208,53
0	9	3	2,13	345,79	58,76	941,24	39,89	665,92	359,75	608,38	229,49

0	9	4	2,17	353,82	82,25	917,75	40,22	654,65	352,55	600,86	217,78
0	9	5	2,17	303,02	71,97	928,03	50,44	775,04	417,54	640,16	96,17
0	12	1	2,25	337,61	56,99	943,01	45,79	684,20	351,26	610,10	206,53
0	12	2	2,41	314,53	54,26	945,74	39,25	709,05	379,13	640,98	192,20
0	12	3	2,35	326,84	55,59	944,41	44,86	635,61	361,48	622,77	258,41
0	12	4	2,44	312,72	52,57	947,43	42,11	692,07	380,66	639,47	207,56
0	12	5	2,36	,	,	,	,	,	,	,	,
7,5	1	1	2,20	302,89	55,51	944,49	37,59	616,26	388,77	653,28	284,40
7,5	1	2	1,95	343,67	50,09	949,91	34,50	615,26	336,55	615,94	294,26
7,5	1	3	2,01	330,03	56,36	943,64	35,85	592,65	371,15	628,68	309,69
7,5	1	4	1,98	341,56	52,66	947,34	32,94	600,81	381,40	619,66	307,75
7,5	1	5	2,06	327,48	52,12	947,88	36,50	590,52	363,22	629,83	314,67
7,5	3	1	2,07	322,50	49,24	950,76	37,47	648,87	395,57	634,50	258,89
7,5	3	2	2,32	311,18	51,97	948,03	36,25	677,22	394,38	647,19	229,18
7,5	3	3	2,21	324,81	48,44	951,56	36,06	660,69	406,67	632,88	248,56
7,5	3	4	2,07	334,05	52,96	947,04	47,55	641,28	367,81	612,32	252,13
7,5	3	5	1,81	374,20	52,25	947,75	38,99	673,13	441,92	581,67	230,49
7,5	6	1	2,36	316,58	67,77	932,23	45,85	662,39	359,30	631,83	218,24
7,5	6	2	2,44	306,38	66,64	933,36	45,83	617,45	374,48	641,95	264,24
7,5	6	3	2,51	301,05	97,88	902,12	46,17	571,41	340,28	646,78	278,55
7,5	6	4	2,41	312,48	62,90	937,10	45,21	647,81	416,80	636,52	238,30
7,5	6	5	2,40	313,57	74,24	925,76	39,36	635,23	367,85	641,17	245,28
7,5	9	1	2,62	309,02	64,35	935,65	43,12	688,60	410,60	641,77	197,85
7,5	9	2	2,54	316,32	56,74	943,26	47,06	735,35	448,92	630,74	154,96
7,5	9	3	2,52	321,07	67,04	932,96	50,55	676,39	427,92	622,29	199,93
7,5	9	4	2,49	323,95	67,97	932,03	47,88	647,57	405,33	622,18	230,60
7,5	9	5	2,39	175,62	66,89	933,11	51,66	691,18	407,44	767,18	184,73

7,5	12	1	2,84	310,04	66,72	933,28	48,10	636,50	409,84	636,25	243,07
7,5	12	2	2,86	308,67	68,26	931,74	51,58	702,38	420,62	633,91	171,94
7,5	12	3	2,75	316,32	66,75	933,25	43,95	716,68	408,80	633,94	166,83
7,5	12	4	2,67	328,90	64,70	935,30	46,92	635,64	445,53	618,15	246,71
7,5	12	5	2,76	316,97	68,32	931,68	48,11	669,35	418,15	628,39	207,69
15	1	1	2,12	363,70	56,25	943,75	36,78	618,03	381,72	593,39	282,80
15	1	2	2,34	331,40	54,28	945,72	36,53	609,94	375,80	626,18	293,37
15	1	3	2,16	347,84	65,16	934,84	38,50	590,53	392,08	607,14	299,28
15	1	4	2,13	350,91	62,62	937,38	38,26	601,47	370,91	604,70	291,52
15	1	5	2,21	350,85	58,70	941,30	38,19	601,88	384,38	605,16	295,43
15	3	1	2,27	343,72	62,89	937,11	38,67	637,07	364,98	611,12	254,89
15	3	2	2,21	346,96	62,37	937,63	40,29	640,51	386,84	604,96	249,04
15	3	3	2,22	348,86	68,60	931,40	40,45	635,77	382,08	604,09	248,58
15	3	4	2,29	339,82	62,69	937,31	36,59	616,27	385,91	617,25	278,11
15	3	5	2,33	331,34	65,06	934,94	39,36	613,69	383,63	622,82	275,41
15	6	1	2,49	326,38	48,46	951,54	42,14	624,76	423,52	623,64	276,79
15	6	2	2,37	333,76	68,49	931,51	42,14	598,40	351,26	616,96	283,83
15	6	3	2,48	325,80	68,69	931,31	40,63	572,25	431,46	626,73	311,59
15	6	4	2,32	344,91	65,47	934,53	39,40	638,98	455,22	608,85	249,32
15	6	5	2,85	281,36	75,88	924,12	50,76	776,41	492,81	661,50	90,57
15	9	1	2,51	335,37	65,51	934,49	46,97	644,44	439,22	610,72	236,14
15	9	2	2,50	338,42	66,50	933,50	47,62	598,89	384,74	607,37	280,40
15	9	3	2,55	328,99	71,15	928,85	41,96	622,69	402,41	622,65	257,81
15	9	4	2,48	334,50	63,30	936,70	41,24	640,82	402,40	618,77	249,14
15	9	5	2,54	329,96	68,74	931,26	43,22	640,11	433,78	620,18	241,28
15	12	1	2,80	321,24	66,78	933,22	38,58	655,11	457,49	634,24	233,58
15	12	2	2,68	333,52	72,88	927,12	44,95	642,73	405,70	615,09	232,99

15	12	3	2,62	343,60	68,56	931,44	43,31	633,51	421,92	607,01	248,54
15	12	4	2,73	326,85	66,88	933,12	54,42	660,63	445,51	612,38	211,72
15	12	5	2,66	337,51	66,67	933,33	37,48	650,52	455,87	618,27	238,60
22,5	1	1	2,21	335,33	62,56	937,44	38,51	545,52	348,00	619,82	347,07
22,5	1	2	2,18	338,78	59,08	940,92	36,54	568,77	360,02	618,09	329,02
22,5	1	3	2,18	341,22	64,12	935,88	37,41	549,05	363,16	615,19	343,24
22,5	1	4	2,21	333,19	66,15	933,85	35,49	551,32	360,49	624,32	340,05
22,5	1	5	2,25	330,72	62,29	937,71	36,57	557,84	371,60	626,41	337,00
22,5	3	1	2,25	341,87	61,32	938,68	35,32	572,41	371,99	613,17	321,31
22,5	3	2	2,37	326,19	64,48	935,52	37,42	555,08	364,64	629,59	336,23
22,5	3	3	2,27	341,51	63,07	936,93	36,44	564,34	355,55	615,55	329,65
22,5	3	4	2,31	331,81	72,96	927,04	39,00	537,28	317,32	623,20	344,77
22,5	3	5	2,24	342,87	61,94	938,06	33,34	545,24	352,39	617,30	352,99
22,5	6	1	2,33	348,46	62,72	937,28	37,81	620,31	381,66	607,79	273,23
22,5	6	2	2,40	340,47	64,28	935,72	34,15	620,04	389,32	619,40	275,55
22,5	6	3	2,46	332,46	63,76	936,24	42,83	590,61	360,22	618,82	296,91
22,5	6	4	2,40	337,78	60,87	939,13	39,98	616,86	355,98	616,61	276,66
22,5	6	5	2,54	320,72	61,01	938,99	41,27	615,51	355,08	631,87	276,07
22,5	9	1	2,71	322,47	59,01	940,99	41,06	633,80	379,27	630,19	259,85
22,5	9	2	2,67	323,68	60,02	939,98	48,01	507,86	358,98	622,36	378,17
22,5	9	3	2,69	326,09	59,34	940,66	40,53	629,23	358,56	628,16	265,67
22,5	9	4	2,86	304,92	61,78	938,22	38,60	674,39	404,32	650,68	219,43
22,5	9	5	2,69	321,49	60,37	939,63	42,53	638,96	375,07	629,94	252,11
22,5	12	1	2,89	306,53	59,40	940,60	36,59	692,64	433,20	651,54	206,02
22,5	12	2	2,91	309,81	65,22	934,78	46,39	648,68	415,82	638,15	234,07
22,5	12	3	2,85	317,49	60,22	939,78	40,72	679,85	464,22	628,50	205,92
22,5	12	4	2,83	313,60	61,32	938,68	40,62	652,79	406,82	640,19	239,69

22,5	12	5	2,85	314,10	58,74	941,26	39,64	682,57	409,49	640,68	213,47
30	1	1	1,95	348,72	56,86	943,14	42,32	579,68	362,23	602,98	315,16
30	1	2	2,01	343,41	53,48	946,52	37,07	576,86	366,42	613,93	327,00
30	1	3	2,02	340,41	56,45	943,55	42,85	505,01	311,87	610,60	389,55
30	1	4	2,01	345,93	54,17	945,83	37,87	563,94	368,00	610,12	337,94
30	1	5	2,00	345,14	53,17	946,83	38,91	519,45	384,01	609,82	382,33
30	3	1	2,11	335,36	56,60	943,40	42,12	577,67	361,07	616,93	318,01
30	3	2	2,12	337,23	54,93	945,07	42,22	546,96	361,37	614,61	349,96
30	3	3	2,10	335,40	56,79	943,21	43,49	507,43	368,57	615,37	386,55
30	3	4	2,10	336,96	56,71	943,29	40,48	637,77	379,74	617,06	259,54
30	3	5	2,16	329,64	62,04	937,96	40,50	614,63	364,30	624,28	277,25
30	6	1	2,25	331,16	55,88	944,12	37,69	641,55	387,55	625,61	259,34
30	6	2	2,24	336,19	57,10	942,90	43,54	608,69	368,72	614,18	284,58
30	6	3	2,06	362,74	56,76	943,24	39,73	570,57	400,11	590,83	326,25
30	6	4	2,24	335,97	59,11	940,89	37,73	600,86	362,96	620,15	296,16
30	6	5	2,18	342,67	60,55	939,45	42,26	636,85	406,36	609,38	254,65
30	9	1	2,29	353,13	55,05	944,95	35,63	636,63	436,31	605,36	266,80
30	9	2	2,29	354,17	56,35	943,65	37,55	586,00	486,77	603,19	315,01
30	9	3	2,44	328,95	56,32	943,68	38,63	673,34	463,08	626,08	225,38
30	9	4	2,44	330,27	57,00	943,00	41,65	637,35	430,16	622,04	257,95
30	9	5	2,40	338,03	58,00	942,00	39,46	655,35	452,46	617,02	241,70
30	12	1	2,51	327,33	64,02	935,98	47,57	670,97	477,36	619,26	211,59
30	12	2	2,38	345,91	54,49	945,51	38,89	664,55	477,94	609,20	236,08
30	12	3	2,57	320,47	62,31	937,69	39,91	641,73	352,08	633,99	250,42
30	12	4	2,54	322,46	62,12	937,88	52,37	624,01	439,37	619,59	255,91
30	12	5	2,47	332,81	56,61	943,39	37,90	600,49	470,96	623,75	299,46

Tabela 7A. Digestibilidade *in situ* efetiva e potencial da matéria seca, proteína bruta e fibra insolúvel em detergente neutro de silagem de sorgo com diferentes níveis de tanino

Amostra	Animal	repet	DE2%_MS	DE5%_MS	DE8%_MS	Dpot_MS
0	1	1	52,04	39,95	34,40	52,04
0	1	2	51,62	38,98	33,36	51,62
0	2	1	51,82	39,90	34,22	51,82
0	2	2	52,10	40,25	34,72	52,10
0	3	1	53,10	40,78	35,12	53,10
0	3	2	53,01	40,83	35,40	53,00
7,5	1	1	51,15	39,56	34,35	51,15
7,5	1	2	50,43	38,01	32,68	50,43
7,5	2	1	52,29	40,45	34,81	52,28
7,5	2	2	52,08	40,52	34,98	52,08
7,5	3	1	52,51	40,96	35,31	52,51
7,5	3	2	51,52	40,26	34,91	51,51
15	1	1	50,95	39,89	34,43	50,94
15	1	2	52,36	39,75	33,90	52,35
15	2	1	53,13	40,49	34,59	53,13
15	2	2	52,11	40,11	34,49	52,11
15	3	1	52,86	40,57	34,81	52,86
15	3	2	52,75	40,74	35,24	52,75
22,5	1	1	50,46	39,23	33,63	50,46
22,5	1	2	51,71	39,97	34,28	51,70
22,5	2	1	52,79	41,22	35,51	52,79
22,5	2	2	51,98	40,10	34,35	51,97
22,5	3	1	52,77	41,36	35,68	52,77
22,5	3	2	51,86	40,14	34,68	51,86

30	1	1	50,96	38,70	32,92	50,96
30	1	2	52,59	40,56	34,56	52,58
30	2	1	52,58	40,81	35,13	52,58
30	2	2	52,36	41,46	35,90	52,36
30	3	1	52,08	40,76	34,96	52,07
30	3	2	52,19	41,03	35,43	52,19

TRAT	Animal	repet	DE2%_PB	DE5%_PB	DE8%_PB	Dpot_PB
0	1	1	51,49	40,08	35,58	51,48
7,5	1	1	54,80	44,90	41,14	54,80
15	1	1	53,78	44,87	40,90	53,78
22,5	1	1	53,62	45,14	41,18	53,62
30	1	1	49,14	37,77	33,22	49,13
0	2	1	52,24	41,30	36,76	52,24
7,5	2	1	53,96	44,24	40,39	53,96
15	2	1	55,48	45,77	41,68	55,48
22,5	2	1	55,65	47,11	43,31	55,64
30	2	1	50,81	40,75	36,44	50,81
0	3	1	52,69	41,15	36,65	52,68
7,5	3	1	55,46	45,98	41,83	55,45
15	3	1	54,99	45,50	41,49	54,99
22,5	3	1	55,63	47,24	43,47	55,62
30	3	1	50,03	40,43	36,06	50,02

TRAT	Animal	repet	DE2%_FDN	DE5%_FDN	DE8%_FDN	Dpot_FDN
0	1	1	46,47	31,20	24,73	46,46
7,5	1	1	44,57	30,09	21,84	44,57
15	1	1	51,29	38,91	32,01	51,29
22,5	1	1	56,48	45,02	37,59	56,48
30	1	1	51,01	37,65	30,77	51,01
0	2	1	46,29	31,00	24,46	46,29
7,5	2	1	46,77	33,69	27,11	46,76
15	2	1	51,41	39,84	33,02	51,41
22,5	2	1	57,08	44,53	36,62	57,08
30	2	1	49,13	37,09	30,69	49,13
0	3	1	45,93	29,20	21,98	45,92
7,5	3	1	45,07	30,07	22,37	45,07
15	3	1	50,92	39,20	32,76	50,91
22,5	3	1	56,75	43,96	35,94	56,75
30	3	1	49,16	36,27	29,30	49,16

## **II. ANEXO**

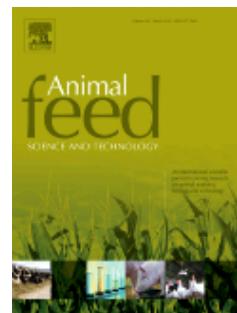
Normas para submissão na revista Animal Feed Science and Technology



---

## TABLE OF CONTENTS

● <b>Description</b>	p.1
● <b>Audience</b>	p.2
● <b>Impact Factor</b>	p.2
● <b>Abstracting and Indexing</b>	p.2
● <b>Editorial Board</b>	p.2
● <b>Guide for Authors</b>	p.4



ISSN: 0377-8401

---

## DESCRIPTION

*Animal Feed Science and Technology* is a unique journal publishing scientific papers of international interest focusing on **animal feeds** and their **feeding**.

Papers describing research on feed for ruminants and non-ruminants, including **poultry, horses, companion animals** and **aquatic animals**, are welcome.

The journal covers the following areas:

**Nutritive value** of feeds (e.g., assessment, improvement) Methods of **conserving** and **processing** feeds that affect their nutritional value **Agronomic** and **climatic** factors influencing the nutritive value of feeds **Utilization** of feeds and the improvement of such Metabolic, production, reproduction and **health responses**, as well as potential environmental impacts, of diet inputs and feed technologies (e.g., feeds, feed additives, feed components, mycotoxins) Mathematical models relating directly to **animal-feed interactions** Analytical and experimental methods for **feed evaluation** Environmental impacts of feed technologies in animal production

The journal does not encourage papers with emphasis on animal products, molecular biology, genetics or management, or the regulatory or legal aspects of feeds as well as animal production studies with a focus on animal nutrition that do not have a direct link to a feed or feedtechnology.

Manuscripts must be prepared in accordance with the journal's Guide for Authors.

Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the following editorials by the Editors-in-Chief:

Editorial on terminology and analytical methods (*Anim. Feed Sci. Technol.* 118 (2005) 181-186) Editorial on experimental design and statistical criteria (*Anim. Feed Sci. Technol.* 129 (2006) 1-11) Editorial on general suggestions and guidelines (*Anim. Feed Sci. Technol.* 134 (2007) 181-188) Editors comments on plagiarism (*Anim. Feed Sci. Technol.* 154 (2009) 292-293)

Editorial on review techniques and responding on editorial comments (*Anim. Feed Sci. Technol.* 155 (2010) 81-85) Editorial on use of replicates in statistical analyses in papers submitted for publication in Animal Feed Science and Technology (*Anim. Feed Sci. Technol.* 171 (2012) 1-5)

For an example of a sample manuscript click [here](#).

---

## AUDIENCE

Animal Scientists, Crop Scientists, Feed Manufacturers, Feed Additive Producers.

---

## IMPACT FACTOR

2018: 2.590 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2019

---

## ABSTRACTING AND INDEXING

Biological Abstracts  
Current Contents - Agriculture, Biology & Environmental Sciences Herbage  
Abstracts  
Index Veterinarius  
Nutrition Abstracts  
Veterinary Bulletin  
Scopus

---

## EDITORIAL BOARD

*Co-Editors*

**V. Bampidis**, International Hellenic University, Thessaloniki, Greece  
**S. Liu**, The University of Sydney, Camden, New South Wales, Australia  
**V. Mlambo**, University of Mpumalanga, Mbombela, South Africa  
**A.K. Patra**, West Bengal State University, Belgachia, Kolkata, India

*Statistical Advisors*

**J. Craigon**, Nottingham, United Kingdom  
**J.G. Fadel**, Davis, CA, United States  
**T.R. Famula**, Davis, CA, United States  
**M.A. Ibáñez**, Madrid, Spain

*Book Review Editor*

**G. Flachowsky**, Braunschweig, Germany

*Senior Editorial Advisory Board*

**R. Campbell**, Willaston, SA, Australia  
**J.W. Cone**, Wageningen, Netherlands  
**J.A. Cuarón**, Colon, Mexico  
**K.M. Koenig**, Ottawa, AB, Canada  
**C.J. Lopez-Bote**, Madrid, Spain  
**G.G. Mateos**, Madrid, Spain  
**V.R. Ravindran**, Palmerston North, New Zealand  
**M. Spanghero**, Udine, Italy  
**K-H. Südekum**, Bonn, Germany  
**M.T. Viana**, Coronado, Mexico

*Editorial Advisory Board*

**J.F. Aguilera**, Granada, Spain  
**A.K. Bach**, Barcelona, Spain

**M.A. Bamikole**, Benin City, Nigeria  
**H. Ben Salem**, Ariana, Tunisia  
**A.R.J.B. Cabrita**, Porto, Portugal  
**S. Calsamiglia**, Barcelona, Spain  
**D. Colombatto**, Buenos Aires, Argentina  
**J. De Boever**, Merelbeke, Belgium  
**R. Dixon**, Brisbane, QLD, Australia  
**R.G Elkin**, Philadelphia, PA, United States  
**E.H. Evans**, Bowmanville, ON, Canada  
**L. Fiems**, Merelbeke, Belgium  
**F. Grosjean**, Le Plessis Pâté, France  
**Y. Kotzamanis**, Athens, Greece  
**J. Kowalczyk**, Jablonna, Poland  
**U. Krishnamoorthy**, Bangalore, India  
**H. van Laar**  
**J. Liu**, Hangzhou, China  
**J.A. Lowe**, Ventnor, United Kingdom  
**J. Miron**, Bet Dagan, Israel  
**B. Mullan**, Perth, Australia  
**M.L. Nelson**, Pullman, WA, United States  
**F.N. Owens**, Johnston, Iowa, United States  
**J.F. Pérez**, Barcelona, Spain  
**H. Petit**, Ottawa, QC, Canada  
**R. Pieper**, Berlin, Germany  
**S.D. Rawles**, Kearneysville, AR, United States  
**M. Rinne**, JOKIOINEN, Finland  
**C. Rymer**, Reading, United Kingdom  
**P.H. Selle**, Sydney, NSW, Australia  
**K. Shingfield**, JOKIOINEN, Finland  
**K.S. Swanson**, Champaign, IL, United States  
**J. Takahashi**, Obihiro, Japan  
**V. Vahjen**, Berlin, Germany  
**R.J. Wallace**, Aberdeen, United Kingdom  
**W. Yang**, Lethbridge, AB, Canada

---

## GUIDE FOR AUTHORS

### INTRODUCTION

#### *Types of article*

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communications
4. Book Reviews

*Original Research Papers* should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

*Review Articles* should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest.

A *Short Communication* is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than six printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

*Book Reviews* will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than two years old. Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

Professor G. Flachowsky  
Federal Research Centre of Agriculture  
Institute of Animal Nutrition Bundesallee 50  
D-38116 Braunschweig  
Germany

Manuscripts describing the use of commercial feed products are welcome, but should include the following information: major components, contents of active ingredients (for example enzyme activities). Independent verification, as opposed to a manufacturers guarantee, is always desirable and often avoids difficulties in the review process, especially where there are no, or few, treatment impacts. The Editors reserve the right to reject any manuscript employing such products, wherein this information is not disclosed.

Submissions concerning feedstuff composition are welcome when published and/or accepted analytical procedures have been employed. However, unusual feedstuffs and/or a wide range of data are pre-requisites.

Submissions concerning NIRS may be suitable when more accurate, precise or robust equations are presented. Mathematical, technical and statistical advancement, may constitute the foundation for acceptance. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

#### **Contact details for submission**

For queries concerning the submission process or journal procedures please visit the Elsevier Support Center. Authors can determine the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

#### **Submission checklist**

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

#### ***Ensure that the following items are present:***

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

*Manuscript:*

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print *Graphical Abstracts / Highlights files* (where applicable) *Supplemental files* (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

**BEFORE YOU BEGIN**

***Ethics in publishing***

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

***Studies in humans and animals***

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms sex and gender should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

***Declaration of interest***

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted.

2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

***Submission declaration and verification***

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that

its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

#### *Preprints*

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

#### *Use of inclusive language*

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

#### *Author contributions*

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. More details and an example

#### *Changes to authorship*

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

#### *Copyright*

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

#### *Author rights*

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

*Elsevier supports responsible sharing*

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

### **Open access**

Please visit our Open Access page from the Journal Homepage for more information.

#### *Elsevier Researcher Academy*

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

#### *Language (usage and editing services)*

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's Author Services.

### **Submission**

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Poorly written and/or presented manuscripts (relative to the journal's guidelines) may be returned to authors for upgrading by the editorial office, prior to a review for scientific merit.

Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the editorial by the Editors-in-Chief in Vol. 134/3-4, which outlines several practices and strategies of manuscript preparation that the Editors-in-Chief have found to be successful. This editorial also outlines practices that can lead to difficulties with reviewers and/or rejection of the manuscript for publication. There is also an example of an Animal Feed Science and Technology manuscript available on the journal website at <https://www.elsevier.com/locate/anifeedsci>.

#### *Submit your article*

Please submit your article via <https://www.evise.com/profile/api/navigate/ANIFEE>.

#### *Referees*

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our Support site. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

### **PREPARATION**

#### **Peer review**

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

Use past tense for current findings, and the present tense for "truths" and hypotheses.

## **Article Structure**

Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered continuously.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

### *Material and methods*

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

If reference is made to AOAC, ISO or similar analytical procedure(s), the specific procedure identification number(s) must be cited. A number of references for neutral and acid detergent fibre (NDF, ADF) assays exist, and an alternative reference to the now out-of-print USDA Agriculture Handbook 379 must be used. There are many options for NDF and ADF assays (e.g. sodium sulfite, alpha amylase, residual ash), which must be specified in the text. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

The following definitions should be used, as appropriate:

- a. aNDFom-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.
- b. NDFom-NDF not assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.
- c. aNDF-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- d. NDF-NDF assayed without a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- e. ADFom-ADF expressed exclusive of residual ash.
- f. ADF-ADF expressed inclusive of residual ash.
- g. Lignin (sa)-Lignin determined by solubilization of cellulose with sulphuric acid.
- h. Lignin (pm)-Lignin determined by oxidation of lignin with permanganate.

While expressions of NDF and ADF inclusive of residual ash will continue to be acceptable (i.e., the terms aNDF, NDF and ADF above), the Editors-in-Chief highly recommend reporting all fibre values, including digestibilities, on an OM basis. Silica is partially soluble in ND, is quantitatively recovered in AD, and so may contribute to the 'fibre' values and to subsequent digestibility coefficients.

Reporting 'hemicellulose' values as the difference between NDF and ADF is generally only acceptable if the analyses have been sequential on the same sample. Crude fibre (CF), nitrogen-free extract (NFE) and total digestible nutrients (TDN) are not acceptable terms for describing feeds and should only be referred to in a historical context.

### *Results*

Results should be clear and concise.

## **Discussion**

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Combined 'Results and Discussion' sections are only acceptable for 'Short Communications', except under compelling circumstances.

### *Conclusions*

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

## **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-

case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

## **Highlights**

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: example Highlights.

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

## **Abstract**

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words. It should contain the following specific information: purpose of study; experimental treatments used; results obtained, preferably with quantitative data; significance of findings; conclusions; implications of results if appropriate.

### *Graphical abstract*

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

## **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

### *Abbreviations*

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### *Acknowledgements*

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### *Formatting of funding sources*

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

#### *Nomenclature and units*

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents for further information.

Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*. All biota (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

SI or SI-derived units should be used throughout (e.g. MJ and not Kcal for energy concentrations). Concentrations should be expressed on a 'per kg' basis (w/w); however, w/v, v/v, mol/mol or M may be accepted depending on the circumstances. In addition, 'units' and 'equivalents' are acceptable. Normality should be avoided, as it may be ambiguous for certain acids. If analytical standards have been used, they should be specified by name (e.g. yeast RNA) and form (e.g. lactose monohydrate). Percents should only be used when describing a relative increase or decrease in a response. Proportions should be maximum 1.0 or  $\leq 1.0$ . For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

Percent is *only* used to indicate relative changes. For composition, both w/w (often solids composition g/kg) and w/v (e.g. g/L), v/v (e.g. m/L), mol/mol or M can be accepted depending on the circumstances. Specify units (e.g. g/L) and never as percent.

Digestibility/metabolisability and degradability should always be expressed as a coefficient (not %), and the content of, for example, the digestible component should be expressed as g/kg: thus, the coefficient of digestibility of dry matter is 0.8, while the content of digestible dry matter is 800g/ kg. A distinction between true and apparent digestibility should be made, as well as between faecal and ileal (e.g. coefficient of total tract apparent digestibility - CTTAD). The terms 'availability' and 'bioavailability' should be avoided without definition in context.

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g.  $\text{Ca}^{2+}$ , not as  $\text{Ca}^{++}$ . Isotope numbers should precede the symbols e.g.  $^{18}\text{O}$ . The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as  $\text{P}_2\text{O}_5$ ).

#### *Math formulae*

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

If differences between treatments are statistically significant, this should be indicated by adding the actual 'P' value obtained. If  $0.10 > P > 0.05$ , then differences can be considered to suggest a trend, or tendency, to a difference, but the actual 'P' value should be stated. Further information on this issue can be found in *Animal Feed Science and Technology* Vol. 129/1-2.

Spaces should be used between all values and units, except for the following: Between the value and degrees or percent. In equations around \* and /. In probability expressions ( $P < 0.05$ ). When probability values are given, the 'P' should be a capital letter.

**Artwork**    *Electronic artwork*    *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired colorvision.

A detailed guide on electronic artwork is available.

***You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.***

*Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

***Please do not:***

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

All data in figures should have a measure of variation either on the plot (e.g., error bars), in the figure legend itself, or by reference to a table with measures of variation in the figure legend.

Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the figures should be kept to a minimum.

If a scale is given, use bar scales (instead of numerical scales) that must be changed with reduction.

*Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

***Tables***

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

## **References**

All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of authors' names and dates are exactly the same in the text as in the reference list. The accuracy of the references is the responsibility of the author(s).

References published in other than the English language should be avoided, but are acceptable if they include an English language 'Abstract' and the number of non-English language references cited are reasonable (in the view of the handling Editor) relative to the total number of references cited.

In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary

- by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that...". "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".

If reference is made in the text to a publication written by more than two authors, the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one co-author - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 2001a, 2001b, etc.

### *Reference links*

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

### *Web references*

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

### *Data references*

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

### *Reference management software*

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/animal-feed-science-and-technology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

#### *Reference formatting*

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/ book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

#### *Reference style*

*Text:* All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999)... Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

*List:* References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

#### *Examples:*

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk Jr, W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York. Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith , R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp.281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

#### *Journal abbreviations source*

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

#### **Video**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in

the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### **Data visualization**

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

### **Supplementary material**

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

### **Research data**

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

#### *Data linking*

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

#### *Mendeley Data*

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

#### *Data statement*

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

#### **Additional Information**

Authors should use the 'Track Changes' option when revising their manuscripts, so that any changes made to the original submission are easily visible to the Editors. Those revised manuscripts upon which the changes are not clear may be returned to the author.

Specific comments made in the Author Comments in response to referees' comments must be organised clearly. For example, use the same numbering system as the referee, or use 2 columns of which one states the comment and the other the response.

#### **AFTER ACCEPTANCE**

##### ***Online proof correction***

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

#### ***Offprints***

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Author Services. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

#### ***AUTHOR INQUIRIES***

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.