

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2021; 11:1-13. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2021.24>  
Artigo Original. Recebido: 21/01/2021. Aceito: 28/04/2021. Publicado: 15/05/2021. Chave: e2021-01.

## Qualidade da fermentação e produção de metano em silagem de forragem de milho com adição de cacto nopal fermentado e não fermentado

Fermentative quality and methane production in corn stubble silage with fermented and unfermented nopal cactus

Araiza-Rosales Elia<sup>1</sup> [ID](#), González-Arreola Adolfo<sup>2</sup> [ID](#), Pámanes-Carrasco Gerardo<sup>1</sup> [ID](#),  
Murillo-Ortiz Manuel<sup>2</sup> [ID](#), Jiménez-Ocampo Rafael<sup>3</sup> [ID](#), Herrera-Torres Esperanza<sup>\*4</sup> [ID](#)

<sup>1</sup>CONACYT-Universidad Juárez del Estado de Durango, Durango, México. C.P. 34000. <sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Juárez del Estado de Durango. Durango, México. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Durango. Km 4.5 Carretera Durango-Mezquital. Durango, México. <sup>4</sup>Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana-Tecnológico Nacional de México. Durango, México. [e\\_araiza2002@hotmail.com](mailto:e_araiza2002@hotmail.com), [junior.glz@hotmail.com](mailto:junior.glz@hotmail.com), [gerardo.pamanes@gmail.com](mailto:gerardo.pamanes@gmail.com), [manuelmurilo906@gmail.com](mailto:manuelmurilo906@gmail.com), [rafax77@hotmail.com](mailto:rafax77@hotmail.com), [hetoes99@yahoo.com.mx](mailto:hetoes99@yahoo.com.mx)

### RESUMO

O objectivo desta investigação era avaliar a qualidade nutritiva e fermentativa e a emissão de metano em silagens de restolhos de milho com nopal (*Opuntia ficus-indica*), para a qual foram avaliados três tratamentos experimentais, T1: forragem de milho; T2: 75% restolhos de milho + 25% nopal e T3: 75% restolhos de milho + 25% nopal fermentado. Vinte e um micro-silos (7 por tratamento) foram preparados em recipientes de plástico e deixados a fermentar durante 30 dias. No final da fermentação, foram avaliadas a composição química, os parâmetros de fermentação, a produção de gás e metano (CH<sub>4</sub>). O conteúdo de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra detergente neutra (FDN) e fibra detergente ácida (FDA) foram diferentes entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ); o conteúdo de PB aumentou 44 % quando se adicionou cacto fermentado (T3). Os valores de azoto amoniacal, ácido láctico e ácidos gordos voláteis foram diferentes entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). A produção máxima de gás (Gmax) e a concentração de CH<sub>4</sub> diminuiu 32% e 49% em T3, respectivamente. A adição de cactos e cactos fermentados à silagem do restolhos de milho aumenta o conteúdo proteico. Além disso, reduz a síntese ruminal de metano *in vitro*.

**Palavras-chave:** fermentação, restolhos de milho, gases de estufa, ensilagem.

### ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the nutritive and fermentative quality and methane emissions in corn stubble silages with nopal (*Opuntia ficus-indica*), for which three experimental treatments were evaluated, T1: corn fodder; T2: 75 % corn stubble + 25 % nopal; and T3: 75 % corn stubble + 25 % fermented nopal. Twenty-one micro-silos (7 per treatment) were prepared in plastic containers and left to ferment for 30 days. At the end of fermentation, the chemical composition, fermentation parameters, gas production and methane (CH<sub>4</sub>) were evaluated. Dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) contents were different among treatments ( $p < 0.05$ ); CP content increased 44 % with the addition of fermented cactus (T3). Ammonia nitrogen, lactic acid and volatile fatty acids values were different among treatments ( $p < 0.05$ ). Maximum gas production (Gmax) and CH<sub>4</sub> concentration decreased 32 % and 49 % at T3, respectively. The addition of cactus and fermented cactus to corn stubble silage increases protein content. In addition, it reduces ruminal methane synthesis *in vitro*.

**Keywords:** fermentation, corn stubble, greenhouse gases, silage.

## INTRODUÇÃO

No norte do México, as temperaturas extremas e a seca prolongada provocaram uma diminuição da produção de forragem. Como resultado, os pequenos produtores consideraram necessário utilizar recursos forrageiros que representam um baixo fornecimento de nutrientes aos ruminantes para contrariar a estação seca (López-Inzunza *et al.*, 2017). Assim, o restolho de milho (*Zea mays*) tem sido utilizado como fonte de forragem em zonas áridas e semi-áridas no norte do país para produzir cereais para consumo humano (SAGARPA, 2009). Nestas condições de produção, o cacto nopal da Índia surge como uma alternativa para a alimentação do gado (Flores-Hernández *et al.*, 2017). O cacto de figo nopal da Índia (*Opuntia* spp.) é um importante recurso vegetal no norte do México; é considerado um armazém de água natural e é muito eficiente no consumo de água (Orona-Castillo *et al.*, 2008). Além disso, o nopal fornece energia digerível, água e vitaminas ao animal durante a estação seca (Dubeux *et al.*, 2018).

Também, em comparação com outras forragens anuais, a nopal utiliza menos água para a produção e crescimento (Flores-Hernández *et al.* 2019). Contudo, o seu baixo teor proteico (4% MS) limita a sua utilização como única fonte forrageira. Devido ao acima exposto, recomenda-se a aplicação de diferentes processos biotecnológicos que ajudam a aumentar o seu conteúdo proteico; por exemplo, a fermentação em estado sólido (FES) (Herrera *et al.*, 2017). O processo FES aumenta o conteúdo proteico do substrato ao aumentar a proteína unicelular na parede celular dos microrganismos. Os microrganismos mais utilizados são leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e algumas espécies de *Kluyveromyces* (Van Markis *et al.*, 2006). Por outro lado, o processo de ensilagem pode ser utilizado para reduzir os problemas de alimentação do gado e fazer face à escassez de forragem na estação seca (Castro *et al.*, 2016). Este processo inibe o crescimento de microrganismos patogénicos, diminuindo o pH, devido à presença de bactérias lácticas (LAB), o que permite preservar a frescura e as características nutricionais das forragens para utilização posterior (Mokoboki *et al.*, 2016). Devido ao acima exposto, o objectivo deste trabalho era avaliar a qualidade nutricional e a produção de gás *in vitro* de silagens de forragem de milho com a adição de cactos e cactos fermentados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudo

O estudo foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Pecuária da Universidad Juárez del Estado de Durango. A variedade de cacto forrageiro AV6 foi colhida aleatoriamente dum campo de cactos cultivados, localizado ao lado da Faculdade e dentro do município de Durango, México.

### Fermentação em estado sólido (FES) e preparação de microsilos

As pencas dos cactos foram cortados em pedaços de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> usando uma faca de aço inoxidável e colocados em recipientes plásticos de 19 l, onde foram inoculados com *Sacharomyces cerevisiae* (1% m/m). O processo de fermentação foi

levado a cabo durante 48 h a 25 °C. Os tratamentos consistiram em incluir cactos e cactos fermentados a forragem de milho, como se pode ver no Tabela 1. Os microsilos experimentais foram preparados com forragens de milho picadas, sem grãos e maduras com uma granulometria de 2 a 4 cm (Variedade: Hybrid 21/20) (T1, n=7), restolho de milho com nopal fresco (T2, n=7) e restolho de milho com nopal fermentado (T3, n=7) em recipientes de plástico (30 cm de diâmetro x 50 cm de altura), hermeticamente fechados durante 30 d. Após este tempo, os microsilos foram abertos para análise posterior.

**Tabela 1. Proporção de ingredientes nos tratamentos experimentais**

(%)	T1	T2	T3
Ingredientes			
Forragem de milho	100	75	75
Cacto não fermentado	--	25	--
Cacto fermentado	--	--	25

### Variáveis de fermentação

Uma vez abertos os microsilos, foram avaliadas as seguintes variáveis: pH (instrumentos Hanna, modelo HI 83142); ácido láctico de acordo com [Borshchevskaya et al. \(2016\)](#); bem como conteúdos de ácido gordo volátil e azoto amoniacal (NH<sub>3</sub>-N), utilizando os procedimentos propostos por [Galyean \(2010\)](#).

### Análise química

As amostras de cada microsilo experimental foram secas num forno de ar forçado a 55 °C durante 72 h; posteriormente, a dimensão das partículas foi reduzida para 1 mm num moinho Wiley mil (Arthur H Thomas, Filadélfia, PA, EUA), para determinar o conteúdo de matéria seca (MS) (método 934.01). As concentrações de proteína bruta (PB) foram determinadas pela técnica de micro-Kjeldhal (método 920,87), utilizando o factor de conversão (6,25) ([AOAC, 2010](#)). FDN, concentração FDA foram obtidas de acordo com os procedimentos propostos por [Van Soest \(1991\)](#) e parâmetros de produção de gás de acordo com a técnica descrita por [Menke e Steingass \(1988\)](#).

### Produção de gás *in vitro*

Aproximadamente 1 g de amostra de cada microsilo experimental foi colocado em módulos de vidro em equipamento transdutor de pressão ANKOM e incubado em triplicado com uma solução 2:1 de solução tampão-líquido ruminal, de acordo com o procedimento descrito por [Murillo-Ortiz et al. \(2018\)](#). As incubações foram efectuadas de

0 a 96 h e os valores de pressão foram registados ao mesmo tempo. A cinética de produção de gás foi estimada utilizando a função Gompertz (Murillo-Ortiz *et al.*, 2018), de acordo com a seguinte equação:

$$GP = Gmax * \exp[-A * \exp(-k * t)]$$

Onde GP= produção de gás no tempo t (ml), Gmax= produção máxima de gás (ml), k= taxa de produção de gás constante (h<sup>-1</sup>) e A= fase de atraso (h). A partir das 24 h de incubação, a válvula foi aberta para libertar gás durante 2 s de cada módulo. O gás libertado de cada módulo foi ligado a um analisador portátil de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> através dum tubo para medir a concentração destes gases de acordo com os procedimentos estabelecidos pelo fabricante (GEM<sup>TM</sup>5000, LANDTEC, EUA).

### **Parâmetros de fermentação *in vitro***

Para avaliar os parâmetros de fermentação, 1 g de amostra foi colocado em sacos de nylon (ANKOM, F500 sacos de nylon; ANKOM, 2018), previamente pesado e colocado dentro dos módulos ANKOM e incubado em triplicado com solução tampão:fluido ruminal, numa proporção de 2:1 de acordo com Murillo-Ortiz *et al.* (2018). Após 24 h de fermentação contínua, os módulos foram abertos e imediatamente o pH foi medido (instrumentos Hanna, modelo HI 83142). Os sacos foram retirados dos módulos e lavados com água destilada e secos a 65°C durante 48 h. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (IVDMS) foi calculada com base na diferença do teor de matéria seca do substrato antes e depois da incubação. Além disso, e aproximadamente 1,0 ml do filtrado foi centrifugado a 3.000×g durante 5 minutos; depois, 500 µl do líquido sobrenadante foi acidificado com 150 µl de ácido metafosfórico a 25 % para avaliar os ácidos gordos voláteis. Também aproximadamente 1,0 ml do filtrado foi colocado em tubos e acidificado com 30 µl de ácido sulfúrico a 50% v/v para determinar N-NH<sub>3</sub> (Galyean, 2010).

### **Análise estatística**

Os dados obtidos foram analisados com um desenho completamente aleatório, utilizando os procedimentos GLM da SAS (2010). Os meios foram comparados com o teste de alcance múltiplo de Tukey e foram declaradas diferenças significativas quando P≤0.05.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Composição química**

O teor de matéria seca (MS) diminuiu com a inclusão de restolho de milho (P<0,05, Tabela 2). Os silagens contendo restolho e cacto (t2 e t3) apresentaram teores de MS adequados, uma vez que, segundo Pineda-Cordero (2016), os silagens contendo entre 30 e 35 % de MS são considerados de boa qualidade. Além disso, a humidade presente nos ensilados determina o tipo de fermentação que teve lugar durante o processo de

ensilagem. Outros factores que determinam a qualidade da fermentação são os hidratos de carbono solúveis presentes e a capacidade tampão da forragem utilizada (Bernal *et al.*, 2002).

A concentração de proteína bruta (PB) foi diferente entre tratamentos ( $P < 0,05$ , Tabela 2). A adição de cactos e cactos fermentados aumentou 43,54 % e 79 % a concentração de PB nos silos, respectivamente, em comparação com t1. Os aumentos em t2 e t3 devem-se ao conteúdo proteico inicial no restolho do milho antes da ensilagem (a forragem verde madura continha 4,9%, enquanto o restolho continha 5,2% PB; resultados não mostrados) e à proliferação de proteína celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada para fermentar o nopal. No entanto, Alhanafi *et al.* (2019) registaram um menor conteúdo de PB em *Opuntia ficus*, silagens indica adicionadas com Atriplex (6,41 %); em comparação com t2 deste estudo.

**Tabela 2. Composição química da silagem de restolho de milho com adição de nopal**

(%)	T1	T2	T3	EPM
Matéria seca	42.0±0.29 <sup>a</sup>	35.9±0.48 <sup>b</sup>	35.5±0.26 <sup>b</sup>	0.25
Proteína bruta	6.2±0.55 <sup>c</sup>	8.9±0.10 <sup>b</sup>	11.1±0.05 <sup>a</sup>	0.05
Fibra detergente neutra	53.2±2.31 <sup>b</sup>	63.1±0.08 <sup>a</sup>	58.8±0.12 <sup>ab</sup>	1.09
Fibra detergente ácida	23.6±0.06 <sup>c</sup>	37.6±0.05 <sup>a</sup>	35.3±0.73 <sup>b</sup>	0.34
Digestibilidade da matéria seca	61.8±2.44	58.4±1.98	64.1±2.20	1.81

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças ( $P < 0,05$ ). EPM= erro padrão da média, n=3.

A concentração de fibra detergente neutra (FDN) foi menor em T1 ( $P < 0,05$ , Tabela 2); foi observado um aumento de 18 % em t2. Este aumento deve-se à presença de restolho de milho, que tem uma grande quantidade de fibra; contudo, parte da hemicelulose é hidrolisada durante o processo de ensilagem. Nesta fase, as pentoses são libertadas e fermentadas em ácido láctico e ácido acético (McDonald *et al.*, 2002).

Da mesma forma, o conteúdo de fibra detergente ácida (FDA) mostrou o mesmo comportamento; o FDA aumentou 59 e 49 % em T2 e T3, respectivamente ( $P < 0,05$ , Tabela 2). Da mesma forma, os aumentos na FDA são atribuídos à presença de restolho de milho em T2 e T3. No entanto, os conteúdos do FDN e da FDA estão dentro da gama de forragens de boa qualidade.

### Parâmetros de fermentação do processo de ensilagem

Os valores de pH eram mais elevados em t2 e t3, em relação a t1 ( $P < 0,05$ , Tabela 3); contudo, todos estavam dentro dos valores ideais, o que é indicativo dum bom processo de fermentação e conservação. Vale a pena mencionar que a taxa a que um ensilagem atinge um pH  $< 4,0$  assegura a estabilidade da ensilagem e reduz a perda de nutrientes

através da fermentação secundária ou contaminação por bactérias e fungos (Ha Vu *et al.*, 2019).

A concentração de azoto amoniacal nos silos aumentou com a inclusão de cactos e cactos fermentados ( $P < 0,05$ , Tabela 3). Este aumento registado nos silos t2 e t3 poderia ter sido causado por um aumento de microrganismos degradantes de proteínas (Berumen *et al.*, 2015; Ruangyote e Metha, 2018), ou também a utilização de restolho de milho reduz a quantidade de hidratos de carbono solúveis e, portanto, aumenta a degradação proteica (Herremans *et al.*, 2019). No entanto, para classificar uma ensilagem como de boa qualidade, a concentração máxima de azoto amoniacal deve ser de 7-20 % do azoto total (Sánchez e García, 2017); por conseguinte, os ensilagens experimentais obtiveram valores que se situam dentro desta gama e, portanto, indicam que foi realizado um processo de fermentação adequado.

**Tabela 3. Parâmetros de fermentação de ensilagem de restolho de milho com nopal adicionado**

	T1	T2	T3	EPM
pH	4.3±0.05 <sup>b</sup>	4.7±0.04 <sup>a</sup>	4.7±0.01 <sup>a</sup>	0.03
N-NH <sub>3</sub> (g/kg MS)	1.9±0.09 <sup>c</sup>	5.5±0.09 <sup>b</sup>	6.5±0.20 <sup>a</sup>	0.03
Ácido Láctico (g/kg MS)	24.3±3.45 <sup>b</sup>	73.9±1.91 <sup>a</sup>	76.7±4.18 <sup>a</sup>	2.71
Ácido Acético (% MS)	0.7±0.26 <sup>c</sup>	0.9±0.00 <sup>b</sup>	1.1±0.02 <sup>a</sup>	0.01
Ácido Propiónico (% MS)	3.5±0.01 <sup>c</sup>	4.2±0.02 <sup>b</sup>	4.3±0.01 <sup>a</sup>	0.01
Ácido Butírico (% MS)	0.01±0.002 <sup>b</sup>	0.03±0.004 <sup>a</sup>	0.04±0.001 <sup>a</sup>	0.002

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças ( $P < 0,05$ ). EPM= erro padrão da média. N-NH<sub>3</sub> = nitrogénio amoniacal, n=3.

A concentração de ácido acético foi diferente entre tratamentos ( $P < 0,05$ , Tabela 3). Os ácidos gordos voláteis são o produto de fermentações induzidas pela presença de bactérias coliformes que transformam o ácido láctico em ácido acético e butírico, que estão presentes no estrume e no solo. Segundo Kung *et al.* (2018), as concentrações de ácido acético situam-se entre 0,5 e 2,0 %, quando o teor de MS é de 45-55 %; portanto, os valores obtidos neste trabalho estão dentro da gama de ensilagens de boa qualidade (0,5-1,1 %). Os valores de ácido propiónico eram diferentes entre tratamentos ( $P < 0,05$ , Tabela 4). Os resultados obtidos neste estudo são iguais aos relatados por González *et al.*, (2019) em silagem de milho com cacto e cacto fermentado (4,0 %). As concentrações de ácido butírico eram mais elevadas em silagens contendo restolho ( $P < 0,05$ , Tabela 3); contudo, estes valores indicam que houve fermentação adequada. Além disso, Da Silva *et al.* (2020) relatam valores mais baixos de ácido propiónico em silagens de cactos com gliricidia. De acordo com os valores de ácido láctico e butírico obtidos nos silos deste estudo, pode inferir-se que a inclusão de cactos e cactos fermentados no restolho



promove um aumento do ácido láctico e uma diminuição do ácido butírico, o que resulta em silagens com boa qualidade fermentativa e nutricional.

### Parâmetros de fermentação ruminal

A concentração de N-NH<sub>3</sub> era menor em t1 comparada com t2 e t3 (P<0,05, tabela 4). A inclusão de cactos e cactos fermentados nos silos de restolho promoveu um aumento de 48 % e 27,7 % no N-NH<sub>3</sub>, respectivamente. As alterações nesta variável indicam que a proteólise está a ocorrer e a aumentar devido ao aumento de proteína bruta na ensilagem pela adição de restolho e cacto fermentado. Contudo, há estudos que afirmam que os aumentos na concentração de N-NH<sub>3</sub> se devem ao facto da proteína não ser incorporada na síntese proteica microbiana, o que reflectiria uma perda de energia no ruminante (Rodríguez *et al.*, 2007). Pelo contrário, outros autores também encontraram aumentos na quantidade de N-NH<sub>3</sub> quando o teor de proteína bruta foi aumentado através da adição de ureia em silagem de ananás (López-Herrera *et al.*, 2014). Além disso, estes resultados coincidem com os obtidos por Pinho *et al.* (2017) em silagens de cactos (17 mg/dL) às 9 h de incubação. Assim, neste estudo, as concentrações de N-NH<sub>3</sub> registadas em todos os tratamentos mostraram níveis adequados superiores a 5 mg/dL, o que permite garantir a síntese de proteínas microbianas (Rodríguez *et al.*, 2007).

**Tabela 4. Parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* de silagem de restolho de milho com adição de cactos**

	T1	T2	T3	EPM
pH	6.8±0.008	6.9±0.17	6.9±0.03	0.01
N-NH <sub>3</sub> (mg/dL)	11.9±1.08 <sup>b</sup>	17.7±0.43 <sup>a</sup>	15.2±0.08 <sup>a</sup>	0.55
Ácido Acético (%)	53.3±0.89 <sup>a</sup>	52.1±0.48 <sup>a</sup>	46.5±0.43 <sup>b</sup>	0.52
Ácido Propiónico (%)	27.1±0.72 <sup>b</sup>	30.6±0.31 <sup>a</sup>	32.1±0.45 <sup>a</sup>	0.43
Ácido Butírico (%)	14.7±0.05 <sup>a</sup>	12.6±0.13 <sup>b</sup>	14.7±0.05 <sup>a</sup>	0.07

<sup>a,b</sup>Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças (P<0,05). EPM= erro padrão da média. N-NH<sub>3</sub> nitrogénio amoniacal; n=3.

Por outro lado, a concentração de ácido acético diminuiu e a concentração de propionato aumentou em estufas de milho e silagem de cactos fermentados (P<0,05; Tabela 4), em comparação com t1 e t2. Neste sentido, uma diminuição da concentração de ácido acético em t2 e t3 está intimamente relacionada com uma diminuição na fermentação de hidratos de carbono estruturais (FND e FDA). Assim, como os hidratos de carbono estruturais têm a maior concentração nos nutrientes em t2 e t3, sugere-se que não está a ter lugar uma fermentação adequada (Van Soest, 1994). No entanto, Sánchez *et al.* (2014) também detectaram uma diminuição da concentração de acetato e um aumento do propionato ruminal. Regularmente, a taxa de produção de propionato e outros AGV está directamente relacionada com o consumo de substratos fermentáveis da dieta, o

que favorece a síntese de propionato a partir da fermentação microbiana por bactérias amilolíticas (Van Soest, 1994).

A produção máxima de gás (Gmax) foi mais elevada em t1 ( $P < 0,05$ ; tabela 5). A inclusão de cactos e cactos fermentados em ensilagem com rastrolho de milho diminuiu a produção máxima de gás em 31,9 % e 48,7 %, respectivamente. Os valores obtidos neste estudo são inferiores aos relatados em leucaena e capim estrela (234 e 154 ml/g, respectivamente) por Naranjo *et al.* (2016). Da mesma forma, González *et al.* (2019) registaram valores de Gmax mais elevados em silagens de milho com nopal (176 ml). A diminuição da produção de gás observada neste estudo é atribuída à diminuição da digestibilidade da matéria seca em t2 e t3, como resultado da adição de restolho de milho, cujos valores FND e FDA são mais elevados do que os registados em t1. Como mencionado acima, a presença de hidratos de carbono estruturais impede a fermentação adequada, o que se reflecte na produção de gás.

**Tabela 5. Parâmetros cinéticos dos ensilagem de forragem de milho adicionados com nopal**

Parâmetro	T1	T2	T3	EPM
Gmax (ml/g MS)	124.8±8.48 <sup>a</sup>	94.6±6.50 <sup>b</sup>	84.0±1.75 <sup>b</sup>	5.10
A (h)	4.2±0.21 <sup>a</sup>	2.7±0.03 <sup>b</sup>	4.4±0.04 <sup>a</sup>	0.10
K(%/h)	0.08±0.001	0.07±0.007	0.09±0.003	0.003
Metano (ml/g MS)	9.7±0.29 <sup>a</sup>	7.3±0.29 <sup>b</sup>	6.5±0.16 <sup>b</sup>	0.21
CO <sub>2</sub> (ml/g MS)	59.0±4.49 <sup>a</sup>	49.8±0.75 <sup>ab</sup>	44.7±0.70 <sup>b</sup>	2.17
Proporção Metano:CO <sub>2</sub>	0.16±0.010 <sup>a</sup>	0.14±0.003 <sup>b</sup>	0.14±0.005 <sup>b</sup>	0.014

<sup>a,b</sup> As letras diferentes na mesma linha indicam uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ). EPM= erro padrão da média; Gmax: produção máxima de gás; k representa a taxa específica de produção de gás; A é o período de latência antes do início da produção de gás (fase de atraso).

Por outro lado, o período de latência "A" diminuiu em 55 % em t2 (ensilagem de restolho + cacto). Para explicar este resultado, variáveis que não foram consideradas neste estudo, tais como o teor de hidratos de carbono solúveis ou de lignina, devem ser tidas em conta, pois são estes os factores que determinam se a fermentação começa mais rapidamente. Neste sentido, López-Inzunza *et al.* (2017) relataram tempos de dormência mais longos para silagem com maior conteúdo FDA, em relação ao conteúdo de FDN em silagem com restolho de ananás; estes autores mostraram concentrações estruturais de hidratos de carbono e tempos de dormência semelhantes aos relatados neste estudo (72 % de FDN e um A de 3,8 h). Além disso, os valores A obtidos neste estudo são também semelhantes aos relatados por González *et al.* (2019) em silagem de milho com cacto



nopal. Além disso, a produção de metano diminuiu 32 e 49 % em silagem que incluíam nopal e nopal fermentado, respectivamente ( $P < 0,05$ ; Tabela 5). Da mesma forma, a proporção metano:CO<sub>2</sub> também diminuiu com a adição de nopal e nopal fermentado, bem como de rastrolho de milho. Esta variável está intimamente relacionada com a síntese ruminal de metano. Valores mais elevados nesta relação sugerem um aumento na síntese ruminal de metano através da via de redução de CO<sub>2</sub> (Murillo *et al.*, 2018). Assim, embora uma redução na produção de metano e CO<sub>2</sub> esteja intimamente relacionada com uma diminuição na qualidade fermentativa dos silagens t2 e t3, esta redução também sugere alterações ou mesmo uma inibição nas populações metanogénicas (Tavendale *et al.*, 2005). Além disso, a diminuição do metano está directamente relacionada com um aumento da produção de propionato ruminal, tal como demonstrado no presente estudo.

### CONCLUSÕES

A adição de cacto nopal e de nopal fermentado aos ensilagem de rastrolho de milho aumenta o teor de proteína bruta em 43 e 79 %, respectivamente. Além disso, a utilização de nopal fermentado e nopal em silagens de rastrolho de milho reduz a síntese de metano ruminal *in vitro*. Pelo contrário, a presença de restolho de milho aumenta os teores estruturais de hidratos de carbono na ensilagem, o que compromete a fermentação ruminal e a produção de gás *in vitro*; contudo, são recomendados estudos *in vivo* para confirmar estes resultados.

### LITERATURA CITADA

ALHANAFI F, Kaysi Y, Muna M, Alkhtib A, Wamatu J, Burton E. 2019. Spineless cactus (*Opuntia ficus-indica*) and saltbush (*Atriplex halimus* L.) as feed supplements for fattening Awassi male lambs: effect on digestibility, water consumption, blood metabolites, and growth performance. *Tropical Animal Health and Production*. 51:1637–1644. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01858-6>

ANKOM. 2018. RF Gas production system operator's manual. ANKOM Technology, USA. [https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/RF\\_Manual.pdf](https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/RF_Manual.pdf)

AOAC. 2010. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg, Maryland. 18 ed. 3er. revisión. 2590 Pp. ISBN: 9780935584820

BERNAL J, Chaverra H, Arciniegas A, Acevedo G, Angel M. 2002. Ensilaje, Heno y Henolaje. 1ª edición, Editorial Angel Comunicaciones. Bogotá, Colombia. ISBN: 978-958-44-1174-7

BERUMEN HL, Páez J, Soto NO, Murillo M, Herrera E, Muro A. 2015. Chemical composition, *in vitro* gas production and energy value of prickly pear fermented with and without *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of BioScience and Biotechnology*. 4(3):359-364.

<https://www.ingentaconnect.com/content/doi/13146238/2015/00000004/00000003/art00014>

BORSHCHEVSKAYA LN, Gordeeva TL, Kalinina AN, Sineokii SP. 2016. Spectrophotometric determination of lactic acid. *Journal of Analytical Chemistry*. 71:755–758. <https://doi.org/10.1134/s1061934816080037>

CASTRO-RINCÓN E, Sierra-Alarcón A, Mojica-Rodríguez J, Carulla-Fornaguera J, Lascano-Aguilar C. 2016. Uso múltiple de leguminosas como abono verde, en rotación con maíz, y heno, para producción de leche. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 17(1):17-29. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol20\\_num3\\_art:1586](https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num3_art:1586)

DA SILVA-BRITO GM, Santos EM, García G, Silva de Oliveira J, Zanine AM, Alexandre Fernandes-Perazzo A, Sena-Campos F, Vasconcelos de Oliveira AG, Cavalcanti HS. 2020. Mixed silages of cactus pear and gliricidia: chemical composition, fermentation characteristics, microbial population and aerobic stability. *Scientific Reports. Nature research*. 10:6834. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63905-9>

DUBEUX JCB, Ben Salem H, Nefzaoui AI. 2018. Producción y utilización del nopal forrajero en la nutrición animal. En: Ingles PC, Mondragon J, Nefzaoui A y Sáenz C. (ed.). *Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal*. FAO-ICARDA. Pp. 229. ISBN 978-92-5-130494-5. <http://www.fao.org/3/i7628es/l7628ES.pdf>

FLORES-HERNÁNDEZ A, Araújo-Filho JT, Gomes da Silva F, Ramírez-Ordoñez S, Murillo-Amador B. 2017. Dietas a base de forraje tradicional y nopal (*Opuntia* spp.) enriquecido con proteínas para alimentar cabras. *Nova Scientia*. 9(18): 149-166. <https://doi.org/10.21640/ns.v9i18.828>

FLORES-HERNÁNDEZ A, Macías-Rodríguez FJ, Meza-Herrera C, García-Herrera G, Esquivel-Arriaga O, Ortiz-Salazar J, Hernández-Bautista C. 2019. Semi-solid fermentation of nopal (*Opuntia* spp) for use as an animal protein supplement. *Revista de Geografía Agrícola*. 63: 87-100. <https://doi.org/10.5154/r.rga.2019.63.04>

GALYEAN ML. 2010. *Laboratory Procedures for Animal Nutrition Research*, 14<sup>th</sup>edn. Department of Animal and Food Sciences, Texas Tech University, Lubbock, Texas. [https://www.dpts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab\\_man.pdf](https://www.dpts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab_man.pdf)

GONZÁLEZ AA, Murillo OM, Pámanes CG, Reveles SF, Herrera TE. 2019. Nutritive quality and gas production of corn silage with the addition of fresh and fermented prickly pear cladodes. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 40(1): 6544-6553. <https://m.elewa.org/Journals/wpcontent/uploads/2019/04/4.Gonzalez.pdf>

HA VU V, Li X, Wang M, Liu R, Zhang G, Liu W, Xia B, Sun Q. 2019. Dynamics of fungal community during silage fermentation of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) produced in northern Vietnam. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 32(7):996-1006. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0708>

HERREMANS S, Decruyenaere V, Beckers Y, Froidmont E. 2019. Aditivos de ensilaje para reducir la degradación de proteínas durante el ensilado y evaluación de la degradabilidad del nitrógeno ruminal *in vitro*. *Grass and forage sciences*. 74(1):86-96. <https://doi.org/10.1111/gfs.12396>

HERRERA TE, Murillo M, Berumen L, Soto-Cruz NO, Páez-Lerma JB. 2017. Protein enrichment of *Opuntia Ficus-indica* using *Kluyveromyces marxianus* in solid-state fermentation. *Ciencia e Investigación Agraria*. 44:113-120. <https://doi.org/10.7764/rcia.v44i2.1767>

KUNG L, Shaver RD, Grant, RJ, Schmidt RJ. 2017. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*. 101: 4020-4033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>

LÓPEZ-HERRERA M, Jones RWC, Rojas-Bourrillón A, Rodríguez-Chacón S. 2014. Valor nutricional del ensilaje de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea. *Nutrición Animal Tropical*. 8(1): 1-20. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/nutrianimal/article/view/14989>

LÓPEZ-INZUNZA HJ, Chongo-García BB, O-León OL, Guerra-Liera JE, Luna-López M, Castro-Camacho SJ, López-Juárez LA. 2017. Digestibilidad *in situ* de rastrojo de maíz tratado con enzimas fibrolíticas. *Revista Ciencia y Agricultura*. 14(1): 31-37. <http://www.doi.org/10.19053/01228420.v14.n1.2017.6085>

MCDONALD P, Edwards RA, Greenhalgh JF. 2002. *Animal Nutrition*. 6th Edition. Longman, London and New York. Pp. 543. ISBN-10:9781408204238

MENKE KH, Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28:7-55. <https://www.scienceopen.com/document?vid=e1859372-e696-424a-85fb-d305b0b594bc>

MOKOBOKI K, Sebola N, Matlabe G. 2016. Efecto de los niveles de melaza y las condiciones de crecimiento sobre el valor nutritivo y la calidad de fermentación de ensilaje de cladodios de *Opuntia*. *Journal of Animal Plant Science*. 28: 4488-4495. <https://doi.org/10.4141/cjas2013-188>

MURILLO OM, Herrera TE, Corral LA, Pámanes CG. 2018. Effect of inclusion of graded level of water hyacinth on *in vitro* gas production kinetics and chemical composition of alfalfa hay based beef cattle diets. *Indian Journal of Animal and Research*. 52(8): 1298-1303. <https://doi.org/10.18805/ijar.11417>

NARANJO JF, Ceballos OA, Gaviria X, Tarazona AM, Correa A, Chará JD, Murgueitio E, Barahona R. 2016. Estudio de la cinética fermentativa *in vitro* de mezclas de forrajes que incluyen *Leucaena leucocephala* proveniente de sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi) en Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 11(2): 6-17. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.11.2.1>

ORONA-CASTILLO I, Flores-Hernández A, Rivera GM. 2008. Manual para el establecimiento y manejo del nopal verdura bajo riego por goteo en la Comarca Lagunera. CENID RASPAINIFAP, Gómez Palacio, Durango, México. Pp.18. <http://biblioteca2.uaaan.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=4441>

PINEDA-CORDERO L, Chacón-Hernández P, Boschini-Figueroa C. 2016. Evaluación de la calidad del ensilado de pasto estrella africana (*Cynodon nlemfluensis*) mezclado con tres diferentes aditivos. *Agronomía Costarricense*. 40(1) 1:11-27. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43646210001>

PINHO RM, Santos EM, Oliveira, JS, Loureiro, AHR, Macêdo, AJS, Alves JP, Santos AP, Santos VS. 2017. Effect of spineless-cactus mucilage on the *in vitro* rumen fermentation of cellulose, starch, and protein. *Revista Brasileira Saúde e Produção Animal*. 18(4):505-517. <https://doi.org/10.1590/s1519-99402017000400002>

RODRÍGUEZ R, Sosa A, Rodríguez Y. 2007. Microbial protein synthesis in rumen and its importance to ruminants. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 41(4): 287-294. [https://www.researchgate.net/profile/Rafael-Rodriguez-10/publication/276901672\\_Microbial\\_protein\\_synthesis\\_in\\_rumen\\_and\\_its\\_importance\\_to\\_ruminants/links/555b266908aeaaff3bfbcad0/Microbial-protein-synthesis-in-rumen-and-its-importance-to-ruminants.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rafael-Rodriguez-10/publication/276901672_Microbial_protein_synthesis_in_rumen_and_its_importance_to_ruminants/links/555b266908aeaaff3bfbcad0/Microbial-protein-synthesis-in-rumen-and-its-importance-to-ruminants.pdf)

SAGARPA. 2009. Aprovechamiento de esquilmos y subproductos en la alimentación de ganado. [Consulta: 2 de Marzo de 2021]. Disponible en: [https://www.academia.edu/19017564/Aprovechamiento\\_de\\_esquilmos](https://www.academia.edu/19017564/Aprovechamiento_de_esquilmos)

SÁNCHEZ-DUARTE, Garcia A. 2017. Ammonia-N concentration in alfalfa silage and its effects on dairy cow performance: A meta-analysis. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 30(3):175-184. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v30n3a01>

SANCHEZ PH, Tracey LN, Browne-Silva J, Lodge-Ivey SL. 2014. Propionibacterium acidipropionici P169 and glucogenic precursors improve rumen fermentation of low-quality forage in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 92:1738-1746. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7148>

SAS Institute. 2010. Statistical Analysis Software SAS/STAT®. version 9.0.2, Cary, N.C., USA: SAS Institute Inc., ISBN: 978-1-60764-599-3. [http://www.sas.com/en\\_us/software/analytics/stat.html#](http://www.sas.com/en_us/software/analytics/stat.html#)

TAVENDALE MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S. 2005. Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology*.123-124(1): 403-419. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037>

VAN MARKIS AJA, Abbot DA Bellissimi E. 2006. Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*: current status. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 90: 391-418. <https://doi.org/10.1007/s10482-006-9085-7>

VAN SOEST PJ, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition: carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 74:35-83. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(91)78551-2)

VAN SOEST PJ. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd Edition, Cornell University Press, Ithaca, USA. Pp. 476. ISBN: 080142772X.