

**Degradabilidade *in situ* da MS de Silagens de Milho Com  
Presença ou Ausência do Gene *Bt* em Ovinos Fistulados no Rúmen**  
Camila Memari Trava<sup>1</sup>, Mauro Sartori Bueno<sup>2</sup> e Geraldo Balieiro Neto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP. camilamemarit@hotmail.com <sup>2</sup>Instituto de Zootecnia. msbueno@iz.sp.gov.br <sup>3</sup>Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA. geralgobalieiro@apta.sp.gov.br

**RESUMO** – A silagem de milho é um alimento bastante utilizado, compondo a maior parte da ração para ruminantes, pois apresenta alto valor nutricional. Desde a liberação pela CNTBio de sementes de milho geneticamente modificadas, muitos passaram a utilizar a silagem de milho transgênico, o qual teve inserido em seu código genético o gene *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) que expressa uma proteína tóxica às lagartas pragas do milho, assim ocorre a diminuição dos custos de produção, bem como o uso de agrotóxicos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a cinética da degradabilidade *in situ* da MS de silagens de milho com e sem o gene *Bt* em ovinos. Para o ensaio foram utilizados quatro ovinos fistulados no rúmen, alojados em baias individuais e alimentados com silagem de milho dos cultivares AG e DKB com ausência e presença do gene *Bt*, durante 56 dias, compreendendo 4 períodos. O delineamento utilizado foi o quadrado latino. Para degradabilidade da MS, observou-se interação da fração a, c e De 2% ( $p < 0,05$ ). A fração b e DP apresentaram efeito apenas para variedade.

**Palavras-chave:** Silagem de milho transgênico, degradabilidade *in situ* da MS, ruminantes.

### Introdução

A silagem de milho é amplamente utilizada, compondo a maior parte da ração para ruminantes, sendo que o desempenho desses animais está associado ao valor nutritivo do alimento. É ainda um dos mais importantes alimentos do setor agrícola não somente por ser elemento básico da ração animal e possuir qualidades nutricionais, mas também por sua versatilidade de uso, gerando um aumento no consumo de milho, havendo, portanto a necessidade de se incrementar a produtividade da cultura por área plantada.

Visando atingir consideráveis aumentos na produtividade do milho, aliados a significativa redução de custos de produção e menores impactos ambientais, este último devido ao menor uso de agrotóxico, muitas tecnologias foram desenvolvidas, sendo uma destas os Organismos Geneticamente Modificados (OGMs).

Os transgênicos chamados *Bt*, como é o caso do milho, são aquelas culturas que tiveram inseridos em seu código genético genes de uma bactéria, o *Bacillus thuringiensis*, que produz toxinas inseticidas, levando à morte o inseto-alvo que se alimenta de qualquer parte da planta *Bt*.

Devido à rápida expansão do milho transgênico e sua vasta utilização por produtores na alimentação animal, o objetivo desse trabalho foi avaliar a degradabilidade *in situ* em

animais fistulados no rúmen, a fim de estimar o valor nutricional das silagens de milho com o gene *Bt* e suas contrapartes isogênicas sem o gene *Bt*.

### Material e Métodos

O experimento de degradabilidade *in situ* foi conduzido na unidade de ovinos do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa-SP. Foram utilizados quatro ovinos machos inteiros adultos, fistulados no rúmen, alojados em baias individuais, durante 56 dias, compreendendo 4 períodos. Os animais foram alimentados com silagem de duas variedades de milho, AG 8088 (híbrido de milho da Agroceres) e DKB 390 (híbrido de milho da Dekalb) e suas contrapartes isogênicas com o gene *Bt*, compreendendo quatro tratamentos, sendo T1: silagem de milho AG, T2: silagem de milho *AGBt*, T3: silagem de milho DKB e T4: silagem de milho *DKBBt*. Na Tabela 1 encontra-se a composição bromatológica das silagens.

A determinação da degradabilidade da matéria seca dos tratamentos com silagem de milho foi realizado pela técnica de sacos de náilon *in situ*, conforme padronização descrita por Huntington e Givens (1995).

Os quatro tratamentos de silagem de milho foram secos em estufa de circulação de ar, mantidas a 55° C até peso constante e em seguida moídos em peneiras de malha 2 mm e amostras de 7g colocadas nos sacos de náilon. Os animais tiveram período de adaptação à dieta de nove dias. Após esse período, diariamente durante cinco dias foram introduzidos no rúmen dos animais os sacos de náilon, e os tempos de incubação no rúmen foram: zero (0), 3, 6, 9, 24, 48, 72 e 96 horas.

Após a retirada, os sacos incubados foram lavados em água corrente até que o líquido da lavagem se apresentasse límpido, sendo em seguida colocados em estufa de circulação forçada a 55°C até peso constante, para a determinação do teor de MS nas amostras incubadas, segundo AOAC (1975). Os dados de degradação *in situ* da MS foram ajustados no modelo matemático proposto por Ørskov e McDonald (1979) para determinar o percentual de proteína que é degradada pelos microrganismos, bem como a degradabilidade efetiva do material. Este modelo é obtido pela seguinte:

Equação 1:

$$Dp = a + b (1 - e^{-ct})$$

Em que:

DP = Degradabilidade potencial estimada (%), ou quantidade do substrato degradado no tempo t;

a = fração rapidamente solúvel;

b = fração que pode ser degradada se houver tempo;  
c = velocidade ou taxa de degradação da fração b;  
e = logaritmo que representa o tempo de colonização dos microrganismos nas partículas para início da degradação microbiana (*lag time*);  
t = tempo de incubação.

O valor de “a+b” representa o potencial máximo de degradação ou fração que poderá ser degradada no rúmen quando o tempo não for o limitante. A degradabilidade do alimento tende a alcançar um máximo e estacionar à medida que o tempo passa e essa porcentagem de material realmente degradado é chamado de degradabilidade efetiva (DE), ela nos dá resultados mais próximos dos verdadeiros valores de degradação, para tanto, em sua equação são inseridos valores conhecidos da taxa de passagem do alimento pelo trato gastrintestinal.

Equação 2:

$$DE = a + [(b * c) / (c + kp)]$$

Em que:

DE = Degradabilidade efetiva (%);

a = fração rapidamente solúvel;

b = fração que pode ser degradada se houver tempo

c = velocidade ou taxa da degradação da fração b;

kp = taxa de passagem da digesta do rúmen (5%/hora)

As equações de degradação *in situ* e dos parâmetros (a, b, c) foram estimadas pelo método iterativo provido pelo SAS.

## Resultados e Discussão

O valor nutritivo das forragens está intimamente relacionado à taxa de desaparecimento no rúmen, portanto, a degradabilidade da MS é influenciada diretamente pelo valor nutritivo do alimento (Van Soest, 1994) e a técnica *in situ* permite que a digestão da MS seja estimada de forma cinética.

Ao analisar os parâmetros relacionados à cinética da degradação *in situ* da MS (frações a, c e DE 2%), como dispostos na Tabela 2, observou-se interação ( $p < 0,05$ ) entre os fatores variedade e OGM. Por esse motivo os resultados passaram a ser descritos considerando como tratamentos as associações entre diferentes variedades com presença ou não do gene. A fração b e DP apresentaram efeito apenas para variedade ( $p < 0,05$ ). De acordo com Huntington e Givens (1995) a fração (a) da MS, representa essencialmente a fração

solúvel e à perda de partículas de alimentos a partir dos sacos inseridos no rúmen do animal, e isso pode estar relacionado a uma maior disponibilidade dos carboidratos para o aproveitamento, ou seja, quanto maior a fração (a), maior a disponibilidade para pronto uso. Sendo assim, a fração (a) apresentou interação estatística ( $p < 0,05$ ) entre os fatores variedade e presença/ausência do gene *Bt*. Para essa fração, a variedade DKB e seu híbrido com o gene *Bt* não diferiram entre si (42,87 e 43,09), no entanto a variedade DKB foi superior à variedade AG tanto na presença quanto na ausência do gene. O AG com o gene apresentou uma leve redução quando comparado a sua contraparte isogênica sem o gene (35,68% e 37,85% respectivamente), sendo estes valores compatíveis aos obtidos por ensaios de degradabilidade *in situ* realizados por Pires et al., (2006) que obtiveram 38,15%.

A degradação da fração potencialmente degradável no rúmen (b) não apresentou efeito de interação, ocorreu efeito apenas para variedade ( $p < 0,05$ ), em que AG apresentou maior valor (39,42) quando comparada a variedade DKB (34,94). Assim, pode-se dizer que onde ocorreu um maior percentual de degradação da fração (b), as silagens apresentaram maior potencial de utilização da fibra pelos ruminantes, resultando assim em maior energia disponível para o animal após o processo de degradação no rúmen (Bumbieris Junior et al. 2011).

Para a fração (c), a variedade AG com o gene *Bt* apresentou uma diminuição da degradabilidade (0,024) quando comparada a sua contraparte sem o gene (0,045), ocorrendo o inverso na variedade DKB em que, com inserção do gene *Bt* (0,035) ocorreu aumento da quantidade de fibra não degradável no rúmen quando comparada ao seu híbrido (0,026). Esses resultados, encontram-se dentro da média sugerida por Sampaio (1988) que geralmente encontra-se entre 2 e 6% para maioria dos alimentos vegetais de boa qualidade.

Os diferentes valores de (c) descritos para MS interferem diretamente na degradabilidade potencial (DP) e na degradabilidade efetiva considerando taxa de passagem de 2%/hora (DE2), e isso se deve a utilização deste fator para o cálculo dessas variáveis. Como pode ser observado na Tabela 2, as silagens que apresentaram maior valor de (c), conseqüentemente apresentaram menor valor de DP e maior valor de DE2.

Assim como a fração b, a DP não foi alterada pela inserção do gene, não havendo interação ( $p > 0,05$ ) sendo estes componentes da matéria seca afetados apenas pelo fator variedade ( $P < 0,05$ ), sendo que a variedade DKB apresentou maior DP (77,4) em relação ao AG (75,59).

Para a degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 2%/hora (DE2), ocorreu um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na variedade DKB com o gene *Bt*, apresentando

valor de 65,14 quando comparadas a mesma variedade sem o gene (63,02) e com o AG na presença do gene (57,59) ( $p < 0,05$ ). A inserção do gene na variedade AG exerceu ação negativa sobre essa variável quando comparado a sua contraparte isogênica sem o gene (64,7).

### Conclusões

Os resultados apresentados demonstram que a cinética de degradação para a fração (a), apesar dos valores terem sido superiores para a variedade DKB, os valores encontrados para AG encontram-se dentro dos considerados ideais por autores. A fração (b) que representa o potencial de utilização da fibra pelo animal apresentou melhor resultado para a variedade AG em relação à variedade DKB, não sendo afetado pelo OGM. A fração (c), apesar da diferença significativa, ambos os valores ficaram dentro do considerado ideal para um alimento de boa qualidade, no entanto, com relação à DP a variedade DKB foi superior à variedade AG. Dessa forma, pode-se dizer que as silagens apresentaram maiores diferenças entre variedades do que as geneticamente modificadas com gene *Bt*, o que não afetou de maneira negativa a cinética de degradação da MS.

### Literatura Citada

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 12.ed. Association of Analytical Chemistry, Washington, D.C., 1975, p. 1094.

BUMBIERIS JUNIOR, B.H.V. Degradabilidade ruminal e fracionamento de carboidratos e proteína em silagens de triticale em cultivo singular ou misturas com aveia e/ou leguminosas. Semina: Ciências agrárias, Londrina, v.32, n.2, p. 759-770, 2011.

HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. Nutrition Abstracts and Reviews, (série B), v.65, p. 64-93, 1995.

ØRSKOV, E. R.; McDONALD I., The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, Cambridge, v. 92, p. 499-503, 1979.

PIRES, A. J. V.; REIS, R. A.; CARVALHO, G. G. P.; SIQUEIRA, G. R.; BERNARDES, T. F.; RUGGIERI, A. C.; ALMEIDA, E. O.; ROTH, M. T. P. Degradabilidade ruminal da matéria seca, da fração fibrosa e da proteína bruta de forrageiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, n. 4, p. 643-648, 2006.

SAMPAIO, I.B.M. Experimental designs and modeling techniques in the study of roughage degradation in rumen and growth of ruminants. Reading: University of Reading, 1988. 214p.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca: Comstock Publ. Assoc., 1994, p. 476.

**Tabela 1-** Composição bromatológica das silagens contendo o gene cry1Ab e de suas contrapartes convencionais sem o gene cry1Ab

Composição Bromatológica (%)	Tratamentos			
	AG	AG Bt	DKB	DKB Bt
MS	27,16	27,93	27,78	26,65
PB	7,10	6,54	7,39	6,99
EE	1,82	2,18	2,63	1,71
FDA	29,72	30,69	30,43	29,85
FDN	52,35	54,70	49,39	52,81
CEL	23,66	24,06	23,90	23,59
LIG	6,06	6,65	6,53	6,57
CNF	35,19	32,76	36,95	34,99
MO	96,46	96,18	69,36	69,5
HEM	22,63	24,01	18,96	22,96

MS = Matéria seca; PB = Proteína Bruta; EE = Extrato etéreo; FDA = Fibra em detergente ácido; FDN = Fibra em detergente Neutro; CEL = celulose; LIG = lignina; CHO's NF = Carboidratos não Fibrosos, MO = Matéria Orgânica e HEM = hemicelulose

**Tabela 2.** Parâmetros de degradação ruminal da matéria seca (MS).

Gene	Variedades	Medias	C.V. (%)		
				DKB	AG
a	Sem Bt	42,87 <sup>Aa</sup>	37,85 <sup>Ba</sup>	<b>40,36</b>	1,81
	Com Bt	43,09 <sup>Aa</sup>	35,68 <sup>Bb</sup>		
	<b>Medias</b>	<b>42,98</b>	<b>36,76</b>		
b	Sem Bt	35,57	38,94	<b>37,25</b>	3,53
	Com Bt	34,30	39,91		
	<b>Medias</b>	<b>34,94<sup>B</sup></b>	<b>39,42<sup>A</sup></b>		
c	Sem Bt	0,026 <sup>Bb</sup>	0,045 <sup>Aa</sup>	<b>0,035</b>	10,98
	Com Bt	0,035 <sup>Aa</sup>	0,024 <sup>Bb</sup>		
	<b>Medias</b>	<b>0,031</b>	<b>0,034</b>		
DP	Sem Bt	78,44	76,79	<b>77,62</b>	1,84
	Com Bt	77,40	75,59		
	<b>Medias</b>	<b>77,92<sup>A</sup></b>	<b>76,19<sup>B</sup></b>		
DE 2	Sem Bt	63,02 <sup>Bb</sup>	64,70 <sup>Aa</sup>	<b>63,86</b>	0,69
	Com Bt	65,14 <sup>Aa</sup>	57,59 <sup>Bb</sup>		
	<b>Medias</b>	<b>64,08</b>	<b>61,15</b>		

CV – Coeficientes de variação, Var – Variedades, OGM – Organismos geneticamente modificados, Inter – Interação; Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

a, b e c referem-se aos parâmetros definidos por Orskov e McDonald (1979), onde a= fração solúvel, b= fração potencialmente degradável, c= taxa de degradação da fração b, DP= degradabilidade potencial, DE2= degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 2%/hora.