



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

WESLEY DE REZENDE SILVA

**FIBROUS COPRODUCTS OF CORN AND CITRUS FOR
DAIRY COWS**

LAVRAS-MG

2021

WESLEY DE REZENDE SILVA

FIBROUS COPRODUCTS OF CORN AND CITRUS FOR DAIRY COWS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Dr. Marcos Neves Pereira
Orientador

LAVRAS-MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Wesley de Rezende.

Fibrous coproducts of corn and citrus for dairy cows / Wesley de Rezende Silva. - 2021.

98 p. : il.

Orientador(a): Marcos Neves Pereira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Coprodutos. 2. Milho. 3. Forragem. I. Pereira, Marcos Neves. II. Título.

WESLEY DE REZENDE SILVA

FIBROUS COPRODUCTS OF CORN AND CITRUS FOR DAIRY COWS

COPRODOTOS FIBROSOS DE MILHO E CITROS PARA VACAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.


Aprovada em 09 de julho de 2021.

Dr. Marcos Neves Pereira/UFLA

Dra. Marina de Arruda Carmago Danés/UFLA

Dr. Shawn S. Donkin/Purdue University

Dra. Renata Apocalypse Nogueira Pereira/Epamig - Suplente



Dr. Marcos Neves Pereira

Orientador

LAVRAS-MG

2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

WESLEY DE REZENDE SILVA – Filho de Edmilson Vieira da Silva e Marilza de Rezende Ferreira Vieira, nascido na cidade de Diadema – SP, no dia 28 de Agosto de 1994. Técnico em agropecuária formado na Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal (UFV) em Florestal – MG no ano 2012. Graduado em Zootecnia no ano de 2019 na Universidade Federal de Lavras (UFLA) em Lavras – MG. Em agosto de 2019 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na área de Produção e Nutrição de Ruminantes na Universidade Federal de Lavras, sob a orientação do Prof. Marcos Neves Pereira.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as bênçãos colocadas sobre mim, por ter me iluminado durante o trajeto que percorri até o momento.

Aos meus pais, Marilza e Edmilson, que sempre me apoiaram e deram força, me educando e me direcionando para o caminho certo, através de todos os ensinamentos que transmitiram ao longo desses anos. Ao meu irmão Pierry que sempre ficou na torcida e mesmo jovem vem me dando força para continuar nessa batalha longe de todos.

Agradeço a todos os meus parentes e amigos, em especial aos meus tios e tias (Marcelina, Marcilene, Levi e Alessandro). Ao Guto e meu pradinho Fernando por todo o incentivo em iniciar minha caminhada na área acadêmica e por todo o apoio e conselho desde então.

À minha namorada Letícia, por todos os conselhos, incentivos e diversas manifestações de carinho, que me fizeram seguir em frente, superando as dificuldades que apareceram ao longo desse caminho.

Ao professor Marcos Neves pela orientação durante todos esses anos como bolsista, membro do Grupo do Leite e como mestrando, pela dedicação e tempo destinado a transferência de conhecimento. A sua esposa Renata, por toda a ajuda, paciência e compreensão dada a mim durante a graduação e mestrado.

Aos integrantes do Grupo do Leite por todo o aprendizado, pela ajuda dada durante a condução do experimento, pelo bom convívio e amizade formada durante esse tempo.

Aos pós graduandos orientados pelo professor Marcos, em especial o Liniker e o Lucas Carneiro pessoas que tive prazer de trabalhar, pela amizade, paciência e apoio durante todo meu mestrado.

Aos bolsista de iniciação científica por toda a ajuda durante o experimento e realização das análises, em especial a Flaviane que me ajudou durante todo o processo e hoje só tenho gratidão por todas a horas de empenho dedicadas na realização das análises e pelo companheirismo.

Agradeço aos funcionários da Fazenda São Francisco (Tião, Geraldo e Josi), por todos os momentos de amizade, diversão e trabalho duro que tivemos ao longo desses anos. Por terem se dedicado e contribuído para a realização do experimento.

Agradeço a banca avaliadora da qualificação (Renata, Erick e Carla) por terem dedicado tempo em corrigir e contribuir para a melhora do trabalho.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pelo excelente ensino.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio durante a realização desse trabalho.

Muito obrigado a todos.

COPRODUTOS FIBROSOS DE MILHO E CITRUS PARA VACAS LEITEIRAS

RESUMO – O objetivo do experimento foi avaliar quatro estratégias alimentares envolvendo o fornecimento de coprodutos fibrosos para vacas em lactação. Vinte vacas holandesas (180 ± 51 dias em lactação, 8 primíparas) em delineamento experimental do tipo Quadrado Latino 4×4 (períodos de 21 dias) foram alimentadas de acordo com a combinação de duas estratégias alimentares em arranjo fatorial 2×2 de tratamentos. As estratégias foram: 1) Alimentos concentrados: substituição parcial de farelo de glúten de milho úmido (GF) por combinação iso-proteica de polpa cítrica e grãos de destilaria secos com coprodutos da fermentação de leveduras (CD); e 2) Forragens: substituição parcial de silagem de planta inteira de milho (CS) por quantidade iso-matéria seca (MS) de resíduo fibroso da espiga de milho (CO). O objetivo foi obter dietas com 20 e 5% da MS composta por GF e CO, com 50% de substituição de CS por CO. A concentração de fibra fisicamente efetiva ($peFDN_{>8}$) foi reduzida de 21,8% da MS nas dietas CS para 19,2% da MS nas dietas CO, e a $peFDN_{>8}$ foi 20,7% da MS nas dietas GF e de 20,2% da MS nas dietas CD. O amido das dietas variou de 21,0 à 23,5% da MS. A significância estatística foi considerada quando $P \leq 0,05$ e tendências quando $0,05 < P \leq 0,10$. O tratamento CS-CD resultou na maior produção de leite corrigido para 4% de gordura (28,5 kg/dia) e energia (30,0 kg/dia) em comparação as demais dietas. O teor de gordura no leite foi reduzido nas dietas CO relativamente as dietas CS. Os animais alimentados com CO tiveram maior consumo de MS (CMS) (20,2 vs. 21,2 kg/dia) e menor eficiência alimentar do que os animais que consumiram as dietas CS. As dietas CO reduziram o consumo de $peFDN_{>8}$ (kg/dia) e o consumo de $peFDN_{>8}$, FDN de forragem e de FDN total como % do peso corporal relativo as dietas CS. As dietas CO reduziram a duração da refeição média, a duração da maior refeição, e o comportamento de ruminação e mastigação (min/dia e min/kg de CMS). A digestibilidade do amido no trato total foi menor nas dietas CO do que nas dietas CS, mas o consumo de amido digestível foi maior nas dietas CO do que nas dietas CS. A dieta CO-GF resultou na menor digestibilidade da FDN. As dietas GF reduziram a produção de leite (29,6 vs. 30,8 kg/dia), tenderam a reduzir o CMS (20,4 vs. 21,0 kg/dia) e reduziram o consumo de matéria orgânica digestível. O tipo de concentrado não afetou o consumo de $peFDN_{>8}$ e a eficiência alimentar. A frequência de alimentação aumentou e a duração da refeição média e o tamanho e a duração da maior refeição foram reduzidos nas dietas GF em relação as dietas CD.

As dietas GF resultaram no aumento da ruminação (min/dia, min/kg de CMS e min/kg de consumo de $peFDN_{>8}$). O consumo de amido digestível tendeu a aumentar nas dietas GF. A produção microbiana no rúmen não foi afetada pelas dietas. A regulação do consumo por FDN longa ocorreu nas dietas com teoricamente baixa inclusão de forragem em resposta a alteração na fonte de forragem e o consumo de amido digestível aparentemente esteve envolvido na regulação do consumo e no comportamento alimentar quando o tipo de concentrado foi alterado em dietas contendo similar proporção de forragem. Todas as estratégias nutricionais avaliadas foram nutricionalmente viáveis, mesmo com as dietas CS tendendo a aumentar o lucro sobre o custo alimentar relativamente as dietas CO, sem efeito do tipo de concentrado no lucro por vaca.

Palavras-chave: coprodutos; milho; forragem; fibra efetiva; comportamento ingestivo.

FIBROUS COPRODUCTS OF CORN AND CITRUS FOR DAIRY COWS

ABSTRACT – The objective of this experiment was to evaluate four strategies of feeding fibrous coproducts to lactating dairy cows. Twenty Holstein cows (180 ± 51 days in lactation, 8 primiparous) in five 4×4 Latin squares (21-day periods) were fed a combination of two feeding strategies in a 2×2 factorial arrangement of treatments. Strategies were: 1) Concentrate feeds: the partial replacement of wet corn gluten feed (GF) by an iso-N blend of pelleted citrus pulp plus corn distillers dried grains (CD). 2) Forage feeds: the partial replacement of whole plant corn silage (CS) by corn ear fibrous coproduct (CO) dry matter (DM). The goal was to have diets with 20 and 5% of DM of both GF and CO and to have a 50% replacement of CS by CO. The calculated concentration of physically effective neutral detergent fiber ($peNDF_{>8}$) was reduced from 21.8% of DM on CS to 19.2% of DM on CO and $peNDF_{>8}$ was 20.7% of DM on GF and 20.2% of DM on CD. Dietary starch ranged from 21.0 to 23.5% of DM. Statistical significance was declared at $P \leq 0.05$ and trends at $0.05 < P \leq 0.10$. The CS-CD diet had the highest yield of 4% fat corrected milk (28.5 kg/d) and energy corrected milk (30.0 kg/d) relative to the other diets. Milk fat content was reduced on CO relative to CS. Cows fed the CO diets had higher DM intake (DMI) (21.2 vs. 20.2 kg/d) and lower feed efficiency than CS. Diets CO reduced the intake of $peNDF_{>8}$ (kg/d) and the intake of $peNDF_{>8}$, forage NDF, and total NDF as % of body weight relative to CS. Diets CO reduced the mean meal duration, the duration of the largest daily meal, and rumination and eating behaviors (min/d and min/kg of DMI). The total tract starch digestibility was lower on CO than CS but the intake of digestible starch was higher on CO than CS. Diet CO-GF had the lowest NDF digestibility. The GF reduced milk yield (29.6 vs. 30.8 kg/d), tended to reduce DMI (20.4 vs. 21.0 kg/d), and reduced the intake of digestible organic matter. The type of concentrate did not affect the intake of $peNDF_{>8}$ and feed efficiency. Meal frequency was increased and mean meal duration and the duration and size of the largest daily meal were reduced by GF. The GF increased rumination (min/d, min/kg of DMI, and min/kg of $peNDF_{>8}$). The intake of digestible starch tended to be increased by GF. Rumen microbial yield did not differ. The regulation of feed intake by long NDF occurred in a theoretically low forage diet in response to change in roughage source and the intake of digestible starch was apparently involved on intake regulation and chewing behavior when the nature of concentrates was altered at

constant roughage in the diet. All nutritional strategies evaluated were nutritionally viable, although there was a trend for income over cost to be higher on CS than CO and type of concentrate had no effect on return per cow.

Keywords: coproducts; corn; forage; effective fiber; feeding behavior.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	10
RESUMO INTERPRETATIVO E RESUMO GRÁFICO	14
CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO	15
1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1. Coprodutos fibrosos	17
2.1.1. Farelo de glúten de milho	17
2.1.2. Grãos de destilaria com solúveis.....	20
2.1.3. Resíduo da colheita do milho	23
2.1.4. Polpa cítrica.....	26
2.1.5. Resíduo de <i>Aspergillus niger</i>	29
2.2. Impacto da alteração da fonte de fibra em dietas de vacas leiteiras	30
2.2.1. Efeitos da fonte de fibra na digestibilidade ruminal da FDN	30
2.2.2. Efeito da fonte de fibra no CMS	31
2.3. Fibra fisicamente efetiva para vacas em lactação.....	33
2.3.1. Efetividade da fibra de coprodutos fibrosos.....	36
2.3.2. Influência da p_e FDN no teor e produção de gordura do leite de vacas lactantes	38
2.4. Ensilagem de coprodutos úmidos	40
2.4.1. Estabilidade aeróbica	41
3. REFERÊNCIAS.....	45
CAPÍTULO 2 – ARTIGO.....	56
ABSTRACT	56
INTRODUCTION.....	58
MATERIALS AND METHODS.....	59
Cows and treatments	59
Sample collection and analysis	60
Aerobic stability and microbiology of feeds.....	63
Economic evaluation	64
Statistical analysis	65
RESULTS.....	65

Feed ingredients and diets	65
Lactation performance and feed efficiency	67
Chewing behavior.....	67
Digestibility, rumen microbial yield, energy and N usage	68
Aerobic stability and microbiology of feeds.....	69
DISCUSSION	70
CONCLUSION	76
REFERENCES.....	76

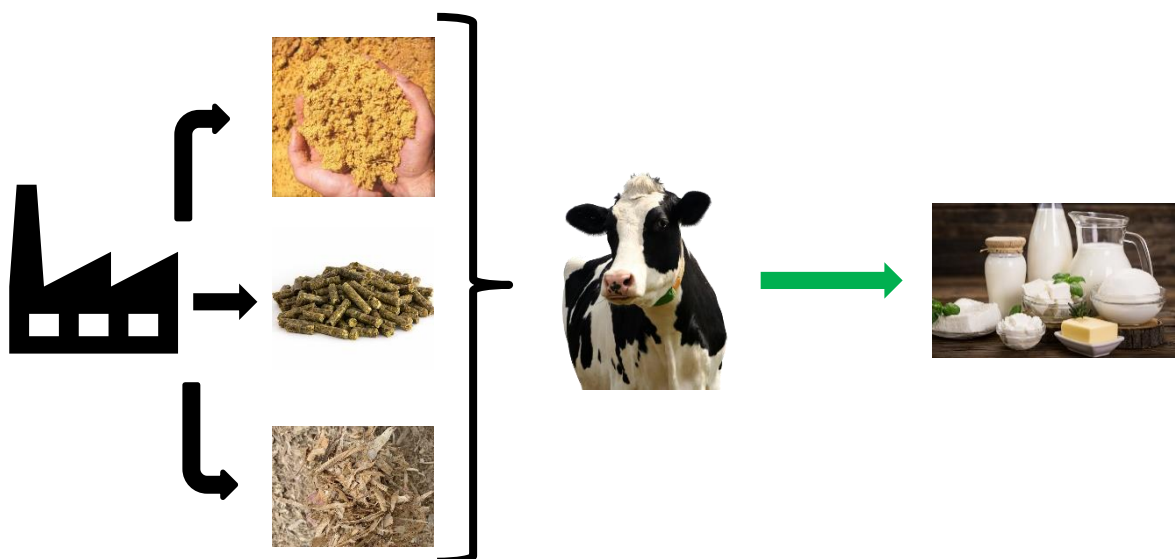
RESUMO INTERPRETATIVO E RESUMO GRÁFICO

Coprodutos fibrosos de milho e citros para vacas leiteiras

Elaborado por **Wesley de Rezende Silva** e orientado por **Marcos Neves Pereira**

Coprodutos fibrosos da indústria de citros e do milho são fontes plausíveis de forragem ou de concentrado na dieta de ruminantes. Os objetivos do trabalho foram avaliar os efeitos de duas estratégias alimentares para vacas em lactação envolvendo o uso coprodutos do milho e de citros: 1) Concentrado: substituição de polpa cítrica e grãos de destilaria secos com coprodutos da fermentação de leveduras (PG) por quantidade isoproteica de farelo de glúten de milho úmido (FG), 2) Forragem: substituição parcial de silagem de milho (SM) por silagem do resíduo fibroso da espiga de milho (CO), além de avaliar a interação existente entre essas duas estratégias em dietas com baixa inclusão de forragem.

O consumo de matéria seca foi maior nos animais recebendo a silagem do resíduo fibroso da espiga de milho comparado aos animais suplementados com silagem de planta inteira de milho. Apesar da diferença no consumo, a produção de leite foi similar entre os tratamentos resultando em menor conversão alimentar para os animais do tratamento CO. Houve tendência dos animais alimentados com FG apresentarem menor consumo de matéria seca comparado ao tratamento PG. Além disso, menor produção de leite foi observada para os animais do tratamento FG comparado ao PG. O teor de gordura no leite reduziu com a substituição de SM por CO. Enquanto que as vacas do tratamento PG tiveram teor de proteína no leite mais elevado dos que as do tratamento FG. A substituição de SM por CO e de FG por PG reduziu a digestibilidade do amido. Contudo o consumo de amido digestível foi maior na dieta CO relativo a dieta CS. O uso dos coprodutos fibrosos do milho e de citros pode ser uma estratégia viável em dietas de vacas leiteiras com baixa inclusão de forragens.



Uso de coprodutos do milho e citros em dietas de vacas leiteiras.

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

O milho é um dos principais cereais produzidos no mundo, sendo que o Brasil é o terceiro maior produtor no ranking mundial (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2020), com mais de 18 mil hectares plantados (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2020). O milho produzido é destinado a produção de alimentos para humanos e animais, além da obtenção de sementes e da produção de etanol. O Brasil também é um importante produtor de laranja, com mais de 346 mil hectares plantados (FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA – FUNDECITRUS, 2021), sendo o maior produtor mundial de laranja (USDA, 2021). Devido a alta produção de milho e laranja, uma diversidade de coprodutos são produzidos e disponibilizados para a alimentação animal.

Dentre os coprodutos oriundos do milho, o farelo de glúten de milho úmido (**FGMU**) e os grãos de destilata com solúveis tem sido utilizados na alimentação de bovinos leiteiros (BENCHAAR et al., 2013; MULLINS et al., 2010), devido a alta digestibilidade (ALLEN; GRANT, 2000; BODDUGARI et al., 2001) e o teor de proteína (KELZER et al., 2010; LOY; LUNDY, 2019) desses alimentos. Porém, o uso do FGMU em substituição a forragem e ao concentrado tem apresentado efeitos variados na produção de leite, de componentes do leite e no consumo de matéria seca (**CMS**; MULLINS et al. 2010; SCHROEDER, 2003; SULLIVAN; GRIGSBY; BRADFORD, 2012). A substituição de concentrados ricos em amido por coprodutos fibrosos do milho aumenta o teor de fibra em detergente neutro da dieta, com redução da concentração de carboidratos não fibrosos (BENCHAAR et al., 2013; BODDUGARI et al., 2001; WEISS, 2019), podendo afetar a digestibilidade dos nutrientes. O CMS pode aumentar em dietas com baixo teor de forragem e alto teor de coprodutos fibrosos de cereais, pois nestes casos a demanda nutricional de energia do animal induz aumento no CMS (PEREIRA; ARMENTANO, 2000). Os estudos sugerem que a inclusão de FGMU ao redor de 20% da matéria seca (**MS**) dietética seria o ideal para maximizar a produção de leite ou leite corrigido para gordura (MULLINS et al. 2010; STAPLES et al. 1984; SULLIVAN; GRIGSBY; BRADFORD, 2012).

O resíduo fibroso da colheita do milho é um coproduto que tem sido utilizado como ingrediente substituto de forragens (CASPERSON et al., 2018; DONNELLY et

al., 2018) e concentrados (COOK et al., 2016) para vacas leiteiras. Porém, a baixa digestibilidade e a alta concentração de fibra nesse alimento pode limitar o seu uso na alimentação animal (PATERSON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, 1981, ZHANG et al., 2021). A inclusão de 15,2% na MS dietética de resíduo da colheita de milho tratado com hidróxido de cálcio e ensilado em substituição total ao pré-secado de alfafa reduziu o CMS de vacas em meio de lactação, sem afetar a produção de leite, de sólidos e o teor de sólidos do leite (CASPERSON et al., 2018).

Outro coproduto com potencial de utilização é o resíduo de *Aspergillus niger*, obtido a partir da produção industrial de ácido cítrico (PAPAGIANNI, 2007). O resíduo do *Aspergillus niger* é um coproduto fibroso com alta digestibilidade, e proteína bruta ao redor de 11,6% da MS (ELIYAHU et al., 2015). Porém, devido ao seu alto teor de umidade, baixa disponibilidade de substratos e baixo pH, a ensilagem desse alimento pode ser limitada (ELIYAHU et al., 2015). Sendo assim, a ensilagem do resíduo do *Aspergillus niger* em combinação com aditivos biológicos (palhas, fenos e coprodutos secos) pode favorecer a preservação e utilização desse coproduto na alimentação animal, resultando em alimentos de bom valor nutricional.

Alem disso, a alta produção de laranja no Brasil favorece a utilização dos coprodutos obtidos a partir do processamento dessa fruta na alimentação animal. A polpa cítrica é um alimento fibroso, que pode ser utilizado de forma satisfatória como fonte de energia para ruminantes (BRODERICK; MERTENS; SIMONS, 2002). Por isso, a utilização de polpa cítrica em substituição ao milho da dieta tem sido adotada (BRODERICK; MERTENS; SIMONS, 2002; SALVADOR et al., 2008a). Porém, a substituição de alimentos ricos em amido por polpa cítrica pode resultar em queda no CMS e na produção de leite (SALVADOR et al., 2008a, 2008b).

A alimentação de vacas leiteiras com coprodutos fibrosos explora a capacidade digestora de fibra dos ruminantes e é eficiente biologicamente. Coprodutos fibrosos de milho e laranja podem suprir forragem ou concentrados na dieta de vacas leiteiras e apresentam grande disparidade no conteúdo de proteína e de carboidratos. O FGMU pode prover teor similar de proteína na MS do que uma mistura de polpa cítrica com um coproduto proteico, enquanto um coproduto da indústria de sementes de milho pode substituir a silagem de planta inteira de milho na dieta, aumentando a eficiência de uso do milho cultivado para grãos. Várias estratégias nutricionais podem ser adotadas para utilizar coprodutos fibrosos em fazendas leiteiras. O objetivo deste experimento foi avaliar duas estratégias de utilização de coprodutos de milho e

laranja. A estratégia 1 envolve o uso de forragens na dieta: a substituição parcial de silagem de planta inteira de milho por coproduto fibroso da espiga do milho (palha, espiga, FGMU, milho moído, resíduo de *Aspergillus niger* e água de maceração). A estratégia 2 envolve o uso de concentrados na dieta: a substituição parcial de proteína de FGMU por quantidade similar de proteína de polpa cítrica e resíduo de destilaria. As estratégias foram combinadas em um arranjo fatorial 2 x 2 de tratamentos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Coprodutos fibrosos

O Brasil é maior produtor de laranja do mundo (USDA, 2021) e ocupa a terceira posição no ranking mundial de produção de milho (USDA, 2020). O milho produzido é destinado a produção de alimentos para humanos e animais, além da obtenção de sementes e da produção de etanol. No caso da laranja, a mesma é utilizada para a fabricação de suco. No processamento do milho e da laranja uma diversidade de coprodutos são produzidos, sendo possível a utilização desses coprodutos na alimentação animal.

2.1.1. Farelo de glúten de milho

2.1.1.1. Produção

O farelo de glúten de milho (**FGM**) é obtido através do processamento úmido do milho para a extração do amido e produção de glicose, adoçantes e etanol (RAUSCH; BELYEA, 2006). Rausch e Belyea (2006) descreveram o processamento úmido do milho em escala industrial. Segundo os autores, o primeiro passo consiste em adicionar o milho em uma solução de ácido sulfúrico (24 à 48 horas), passando pelo processo de maceração, o qual da origem a água de maceração. Posteriormente é realizada a separação do gérmen e da fibra, baseado na densidade e no tamanho de partículas dessas frações, onde é obtido o gérmen de milho e o FGM. O FGM é composto pela fração fibrosa extraída do grão em conjunto com a água de maceração. A última etapa consiste na separação do amido e proteína presente no material, sendo essa separação realizada por centrifugações. No final é obtido o amido e o glúten de milho.

Os coprodutos obtidos no processamento úmido do milho ao final do processo possuem alta umidade, sendo possível a comercialização do FGM em sua forma

úmida (**FGMU**) ou seca (**FGMS**). Esse coproduto, possui normalmente fibra em detergente neutro (**FDN**) entre 35 e 45% da matéria seca (**MS**; BODDUGARI et al., 2001) e baixo teor de lignina (2 à 3% na MS; ALLEN; GRANT, 2000; NATIONAL RESEARCH CONCIL – NRC, 2001), com alta digestibilidade ruminal (BODDUGARI et al., 2001). Devido a essas características, o uso do FGM na alimentação animal é vantajoso por fornecer fibra altamente fermentável aos animais (HAO et al., 2017). Além disso, possui aproximadamente 25% (na MS) de proteína bruta (**PB**; LOY; LUNDY, 2019), com potencial uso em substituição à ingredientes proteicos da dieta. Entretanto, alguns pontos devem ser levados em consideração ao se utilizar o FGM, como a alta proporção de proteína degradável no rúmen (**PDR**; 88,5% da PB; KELZER et al., 2010) e de fósforo (0,82% da MS; RAUSCH; BELYEA, 2006).

2.1.1.2. Fornecimento de FGM para vacas em lactação

A inclusão de FGM nas dietas de vacas em lactação tem sido feita em substituição ao concentrado (STAPLES et al., 1984; GUNDERSON et al., 1988), forragem (HAO et al., 2017) ou de ambos, forragem e concentrado (MULLINS et al., 2010; SCHROEDER, 2003). No trabalho de Mullins et al. (2010), foi realizada a substituição de concentrado (milho moído, farelo de soja e casquinha de soja) por 11% de FGMU na MS, e de forragem (silagem de milho e feno de alfafa) e concentrado por 23 e 34% de FGMU na MS. Essas alterações resultaram no aumento da FDN e na redução do amido e dos carboidratos não fibrosos (**CNF**) das dietas com o aumento da inclusão do coproduto do milho. O fornecimento das dietas com o FGMU para vacas em lactação resultou em aumento linear no consumo de matéria seca (**CMS**), produção de leite e de sólidos do leite comparado a dieta sem a inclusão do coproduto do milho, sendo que não houve diferença entre os tratamentos quanto ao teor de sólidos do leite. Nesse mesmo estudo, não foi observado diferença no nitrogênio ureico no leite (**NUL**). Porém, foi observado efeito quadrático dos tratamentos na cocentração de amônia ruminal, com as substituições 11 e 23% apresentando menor concentração de amônia. Além disso, o aumento da inclusão do coproduto do milho reduziu linearmente a concentração de acetato, isovalerato e o pH ruminal, com aumento linear na concentração de propionato e valerato.

Sullivan, Grigsby e Bradford (2012) ao avaliarem a inclusão de 0, 12,4, 24,5 e 35,1% de FGMU (na MS dietética) em dietas de vacas leiteiras em substituição as forragens (feno de alfafa e silagem de milho) e ao concentrado (milho moído e farelo

de soja), observaram efeito quadrático da inclusão do coproduto no CMS e na produção de leite, com maior produção no tratamento com 24,5% de FGMU. Nesse mesmo trabalho, houve aumento linear na produção de proteína e efeito quadrático na produção de lactose, com maior produção para o tratamento 24,5% de FGMU, não houve diferença na proporção de sólidos no leite. Os autores também observaram queda na seleção a favor das partículas pequenas (<1,18 e entre 1,18 e 8 mm) e aumento na seleção a favor das partículas maiores (>19 e entre 8 e 19 mm) com o aumento da inclusão do coproduto. Essas alterações resultaram em queda linear na concentração de acetato, isobutirato, isovalerato e na relação acetato:propionato com aumento linear do valerato no rúmen com a inclusão crescente do FGMU, sem afetar o pH médio e o tempo de pH abaixo de 5,8 ou 5,6 (SULLIVAN; GRIGSBY; BRADFORD, 2012).

Firkins, Eastridge e Palmquist (1991) observaram aumento na produção de leite e de proteína do leite quando 20% de FGMS (na MS dietética) foi utilizado em substituição parcial a silagem de milho e concentrado (milho e farelo de soja) na dieta de vacas leiteiras da raça Jersey. Por outro lado, o fornecimento de FGMU para vacas em lactação na inclusão de 0, 15, 30 e 45% da MS da dieta em substituição a silagem de milho, pré secado de alfafa e aos grãos de cevada resultou em CMS e produção de leite similar entre os tratamentos, e em aumento linear no teor de gordura do leite com o aumento da inclusão do coproduto (SCHROEDER, 2003). Ao realizar uma regressão avaliando a inclusão crescente de FGMU em substituição a forragem e ao concentrado da dieta sobre a produção de leite, Schroeder (2003) observou que para vacas holandesas múltiparas a inclusão que maximizaria a produção de leite seria de 18,6% da MS. Nesse mesmo estudo, a inclusão crescente de FGMU (0, 15, 30 e 45% da MS) resultou em aumento linear do NUL e nitrogênio ureico no plasma (**NUP**), sendo que os animais consumindo 15 e 30% de FGMU tiveram maior concentração de amônia ruminal comparado ao tratamento sem a inclusão do coproduto.

Hao et al. (2017) ao substituírem feno de alfafa por FGMS (7 e 11% da MS da dieta) e feno de gramínea na dieta de vacas leiteiras, observaram aumento no CMS, produção de proteína e no teor de proteína do leite com a utilização do coproduto. O fornecimento do FGMS não afetou a eficiência de utilização de nitrogênio, NUL e o NUP. Além disso, não houve efeito dos tratamentos quanto a proporção molar de acetato, propionato e butirato no líquido ruminal coletado 3 horas após a primeira alimentação (HAO et al., 2017). De forma geral, o aumento no consumo e produção

de leite quando fontes forrageiras são substituídas por FGM pode ser justificado pela maior taxa fracional de passagem do coproduto pelo rúmen comparado as forragens, reduzindo o efeito do enchimento ruminal das dietas (ALLEN; GRANT, 2000; MULLINS et al, 2010).

A substituição de apenas concentrado (milho moído e farelo de soja) por FGMU nas proporções 20, 30 e 40% da MS, em dieta com 50% de foragem, resultou em queda linear no CMS, produção de leite, teor de gordura e de proteína do leite de vacas leiteiras, sendo sugerido inclusão máxima entre 25 e 30% da MS (STAPLES et al., 1984). Gunderson et al. (1988) ao substituírem milho e farelo de soja por 10, 20 e 30% de FGMU na MS dietética, não observaram diferença no CMS, produção de leite e de leite corrigido para 3,5% de gordura ou nos componentes do leite, concluindo que a inclusão desse coproduto pode chegar a 30% da MS da dieta para vacas em meio de lactação. A utilização do FGM em substituição ao concentrado pode ser adotada, porém seu uso se torna limitado devido ao aumento do teor de FDN e consequente redução do amido e CNF das dietas, podendo resultar em queda do desempenho produtivo dos animais.

Em meta-análise avaliando estudos que utilizaram o FGM, Darabighane et al. (2020) constataram que de forma geral a inclusão desse coproduto resulta em aumento no CMS, produção de leite, gordura, proteína e lactose, e aumento no teor de lactose. Os resultados da utilização do FGM podem ser afetados pela interação do mesmo com os outros ingredientes da dieta (ALLEN; GRANT, 2000). Aparentemente a inclusão de forragem possui grande impacto sobre o efeito do fornecimento do FGM, já que consumo de forragem foi a principal causa de variação na produção de leite, porcentagem de gordura no leite e pH ruminal na meta análise de DARABIGHANE et al. (2020). Desse modo, a inclusão de FGM ao redor de 20% da MS dietética tem sido sugerida por apresentar resultados positivos no desempenho produtivo de vacas em lactação (MULLINS et al. 2010; SCHROEDER, 2003; STAPLES et al. 1984; SULLIVAN; GRIGSBY; BRADFORD, 2012).

2.1.2. Grãos de destilaria com solúveis

2.1.2.1. Produção

A produção de etanol a partir do processamento por moagem a seco do milho resulta na obtenção dos grãos de destilaria (LOY, LUNDY, 2019; RAUSCH; BELYEA,

2006), os quais podem ser comercializados em sua forma úmida (**GDU**) ou seca (**GDS**). O processamento baseado na moagem a seco do milho foi descrito por Rausch e Belyea (2006), sendo o primeiro passo a moagem dos grãos de milho. O farelo de milho obtido após a moagem é então cozinhado com água e amilase até que todo o milho seja dissolvido. Posteriormente é adicionado glicoamilase e leveduras na mistura, com o objetivo de realizar a fermentação desse material. Após a fermentação, a solução é composta por etanol, água e os sólidos não fermentados, essa solução passa por um processo de destilação onde o etanol é extraído. Após a obtenção do etanol, os sólidos não fermentados são separados por centrifugação, dando origem aos GDU. A fração líquida extraída passa por um processo de evaporação onde é concentrada, gerando os solúveis de destilaria condensados que são novamente adicionados aos GDU, dando origem aos grãos de destilaria secos com solúveis (**DDGS**).

O DDGS é o principal coproduto obtido a partir do processamento de moagem a seco do milho (RAUSCH; BELYEA, 2006). A utilização desse alimento em dietas de ruminantes tem sido adotada devido ao seu elevado teor de PB (30,6% de PB com base na MS; LOY; LUNDY, 2019) e alta proporção de proteína não degradável no rúmen (**PNDR**; 42,8% da PB; KELZER et al., 2010; MJOUN et al., 2010). Contudo, a elevada concentração de enxofre (0,61% da MS; MJOUN et al., 2010; KELZER et al., 2010; RAUSCH; BELYEA, 2006) e o alto teor de fósforo (0,79% da MS; MJOUN et al., 2010; KELZER et al., 2010; RAUSCH; BELYEA, 2006) podem se tornar fatores limitantes ao se utilizar esse coproduto na alimentação animal.

2.1.2.2. Fornecimento de DDGS para vacas em lactação

Devido sua composição química, os DDGS tem sido utilizado na dieta de vacas em lactação em substituição ao concentrado (BENCHAAR et al., 2013; RANATHUNGA et al., 2018) e em substituição a forragem e ao concentrado concomitantemente (JANICEK et al., 2008; KELZER et al., 2009). Kelzer et al. (2009) avaliaram o efeito do fornecimento de dietas contendo coprodutos de milho em relação a dietas sem coprodutos. Os coprodutos utilizados foram DDGS (30,9% de PB e 30,3% de FDN na MS), grãos de destilaria de alta proteína (**GDAP**; 46,1% de PB e 26,4% de FDN na MS) e farelo de gérmen de milho. A inclusão dos coprodutos foi realizada em substituição a parte do pré secado de alfafa, farelo de soja e milho moído, de forma a manter as dietas isoproteicas (cerca de 19% de PB na MS). A

inclusão dos coprodutos foi de 15% da MS para DDGS e farelo de gérmen de milho e 14,4% da MS para GDAP. O uso do DDGS e GDAP não afetou o CMS e o desempenho lactacional dos animais em relação ao tratamento controle, com respostas similares entre esses coprodutos.

O fornecimento de DDGS em substituição a forragem (silagem de milho, pré secado de alfafa e feno de alfafa) e concentrado (milho moído, farelo de soja e caroço de algodão) em dietas de vacas em lactação foi avaliado por Janicek et al. (2008). Os tratamentos utilizados foram 0, 10, 20 e 30% (na MS dietética) de DDGS. O fornecimento do coproduto aumentou linearmente o CMS, produção de leite, leite corrigido para gordura, proteína e gordura do leite, e o NUL, sem afetar o teor de sólidos no leite. Por outro lado, Mulrooney et al. (2009) substituíram canola por 3,24, 6,63 e 10,40% de DDGS na MS da dieta, de forma a manter o teor de PB (16% na MS) similar entre os tratamentos, e não observaram diferença no CMS e no desempenho lactacional entre os tratamentos.

O uso de DDGS em dietas variando a inclusão de forragem foi avaliado no experimento de Ranathunga et al. (2018). O delineamento experimental utilizado foi do tipo Quadrado Latino 4×4 , em arranjo fatorial 2×2 , com o efeito da inclusão do DDGS (0 e 18% da MS) e de forragem (41 e 60% de forragem com base na MS), sendo que a inclusão do coproduto foi realizada em substituição ao milho moído e a fontes proteicas de soja. Nesse estudo, não foi observada interação entre o uso do coproduto e a inclusão de forragem para as variáveis de consumo e desempenho lactacional. Porém, a inclusão de 18% da MS de DDGS aumentou o consumo de FDN e reduziu o de amido relativo ao tratamento 0% de DDGS.

Benchaar et al. (2013) utilizaram 12 vacas holandesas fistuladas no rúmen em um delineamento experimental do tipo Quadrado Latino 4×4 com períodos de 35 dias para avaliar o efeito da substituição de milho floculado e farelo de soja por DDGS. Os tratamentos utilizados foram 0, 10, 19,9 e 30% (na MS dietética) de substituição de milho floculado e farelo de soja por DDGS de forma a manter as dietas isoproteicas (16,5% de PB na MS). A inclusão crescente do coproduto aumentou a FDN dietética de 32,3 para 37,8% da MS, e reduziu o teor de amido de 19 para 11,2% da MS. Nesse estudo, houve aumento linear no CMS, digestibilidade da MS, MO e do amido com o aumento na inclusão do DDGS, sem afetar a digestibilidade da FDN. Houve aumento linear na produção de leite, de proteína e lactose do leite quando os animais

consumiram o coproduto, porém os tratamentos com DDGS reduziram linearmente o teor de gordura e proteína no leite.

De forma geral, o desempenho produtivo de vacas em lactação é afetado pela inclusão do DDGS, com diferentes resultados sendo observados na literatura, coerente com as diferentes estratégias de utilização e níveis de inclusão adotados. Além disso, a qualidade nutricional dos grãos de destilaria é influenciada pelo processamento do grão (BELYEA et al., 2010), acarretando em alterações na composição química desses alimentos entre fábricas ou até mesmo entre lotes produzidos de uma mesma fábrica (BELYEA; RAUSCH; TUMBLESON, 2004; BELYEA et al., 2010; KELZER et al., 2010), o que pode justificar parcialmente a variação na resposta animal observada entre os estudos.

Do mesmo modo, a variação na proporção de PDR, PNDR e no perfil de aminoácidos entre os alimentos pode influenciar o desempenho produtivo de vacas leiteiras, sendo que os coprodutos do milho possuem mais metionina e menos lisina como proporção da PB comparado ao farelo de soja (MJOUN et al., 2010; NRC, 2001). Além disso, o aumento na disponibilidade de aminoácidos essenciais (ex.: leucina, isoleucina) para a glândula mamária tem sido associado com aumento na síntese de proteína do leite (ARRIOLA APELO; KNAPP; HANIGAN, 2014; YODER et al., 2020). Esses fatores podem justificar a queda no desempenho produtivo de vacas em lactação consumindo dietas a base de fontes proteicas do milho em substituição as fontes proteicas de soja (LOBOS; WATTIAUX; BRODERICK, 2021; WEISS, 2019).

2.1.3. Resíduo da colheita do milho

A utilização do resíduo da colheita do milho pode ser adotada na alimentação de ruminantes. Porém, a baixa digestibilidade e o alto teor de FDN (próximo de 79% da MS; CASPERSON et al., 2018; WEI; ZHANG; LIU, 2018) presente nesse material faz com que seu uso seja limitado (PATERSON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, 1981; ZHANG et al., 2021). Ao avaliar o efeito da inclusão de 0, 20, 40 e 60% (proporção da forragem total) do resíduo da colheita do milho em substituição a silagem de milho, onde as dietas possuíam alta (20:80) e baixa (80:20) relação forragem e concentrado para novilhas holandesas, foi observado aumento linear no consumo de MS e de FDN, e queda no consumo de amido com o aumento da inclusão do resíduo independente da relação forragem:concentrado utilizada (LASCANO; HEIRICHS,

2011). Além disso, houve redução linear na digestibilidade aparente da MS, matéria orgânica (**MO**) e do amido no trato total quando a inclusão do resíduo da colheita do milho foi de 0 para 60% do total de forragem utilizada na dieta (LASCANO; HEIRICHS, 2011). Por outro lado, Wei et al. (2019) ao substituírem feno de alfafa por 14,6% (na MS dietética) de resíduo da colheita do milho não tratado em dietas de vacas leiteiras em meio de lactação observaram queda no CMS, produção de leite, leite corrigido para energia e de proteína no leite. A substituição total de 14,6% de feno de alfafa por resíduo da colheita do milho não tratado, em uma dieta contendo cerca de 40% de CNF resultou em queda no CMS e produção de leite, com aumento no teor de gordura do leite (WEI; ZHANG; LIU, 2018).

Por outro lado, Zhu et al. (2013) forneceram o resíduo da colheita de milho não tratado (19% na MS) para vacas em início de lactação em substituição ao feno de gramínea e feno de alfafa em um delineamento experimental do tipo quadrado latino 3 x 3. A substituição do feno de gramínea por resíduo da colheita do milho não afetou o desempenho lactacional e CMS dos animais. Entretanto, quando o feno de alfafa foi substituído, houve queda no teor de proteína e gordura no leite, sem diferença estatística na produção de leite e CMS. O tratamento com o resíduo da colheita do milho reduziu a eficiência alimentar (leite/CMS) em relação ao tratamento com feno de alfafa, provavelmente pela redução numérica na produção de leite de 26,9 kg/d no tratamento com feno de alfafa para 25,1 kg/d no tratamento com o resíduo da colheita do milho.

O tratamento químico do resíduo fibroso da colheita do milho, resulta em aumento na digestibilidade dos nutrientes devido a solubilização da fibra (JAKSON, 1977; PATERSON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, 1981), podendo favorecer a utilização desse coproduto na alimentação de vacas em lactação. Donnelly et al. (2018) ao suplementarem vacas em lactação com resíduo fibroso da colheita do milho tratado com hidróxido de sódio, observaram aumento na digestibilidade da FDN e da MO no trato total comparado aos animais suplementados com o resíduo não tratado. Porém, mesmo com o aumento da digestibilidade, não foi observado melhora no desempenho produtivo dos animais ou alteração no CMS com o fornecimento do resíduo tratado em relação ao resíduo não tratado (DONNELLY et al., 2018).

Apesar do aumento na digestibilidade com o tratamento químico, a resposta animal à inclusão do resíduo tratado em substituição a outros ingredientes da dieta tem sido variada. A inclusão de 15,2% de resíduo da colheita de milho, tratado com

6% de hidróxido de cálcio na matéria natural (**MN**) e ensilado, em substituição total ao pré-secado de alfafa reduziu o CMS de vacas em meio de lactação, sem afetar a produção de leite, de sólidos e o teor de sólidos do leite (CASPERSON et al., 2018). O fornecimento de 15% da MS dietética do resíduo da colheita do milho tratado com CaO e 12% de GDS em substituição ao feno de gramínea e a parte do concentrado em dietas formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas reduziu o teor de proteína do leite e o NUL de vacas em meio de lactação (SHI et al., 2015). Nesse trabalho, foi observado maior digestibilidade aparente da MS e da fibra em detergente ácido no trato total para os animais que consumiram o resíduo tratado. A substituição de feno de trigo por 15% da MS dietética do resíduo da colheita do milho tratado com 5% de NaOH reduziu o CMS e aumentou o teor de gordura e de proteína verdadeira do leite, resultando em aumento da produção de leite corrigido para energia de vacas em meio de lactação (JAMI et al., 2014). Nesse mesmo estudo, houve maior digestibilidade da hemicelulose e pH médio ruminal, e menor tempo diário de ruminação para os animais consumindo o resíduo da colheita do milho.

Além disso, outra estratégia de utilização desse alimento seria em substituição aos ingredientes concentrados da dieta. Cook et al. (2016) ao substituírem de forma gradativa milho moído por resíduo fibroso da colheita do milho tratado com CaO e ensilado por no mínimo 60 dias, observaram queda linear no CMS e na produção de leite, além de queda na produção de sólidos do leite quando a inclusão do resíduo foi de 0 para 12,9% da MS dietética, provavelmente por aumento na FDN e redução na concentração de amido na dieta. Os resultados da inclusão do resíduo fibroso de milho podem variar de acordo com a produção de leite e os dias em lactação (WATSON et al., 2015), sendo a utilização do resíduo da colheita do milho não tratado para animais com menor demanda energética mais vantajosa. Além disso, em dietas com alta inclusão de carboidratos fermentáveis no rúmen esse coproduto pode reduzir a queda no teor de gordura do leite, possivelmente devido a baixa digestibilidade da fibra e a capacidade de estimular a ruminação.

O uso do resíduo fibroso da colheita do milho com maiores proporções da fração mais digestível da planta pode ser adotada a fim de se obter alimentos de maior valor nutricional. Ao avaliarem a qualidade nutricional de diferentes partes da planta de milho, Stalker et al. (2015) observaram que a palha da espiga do milho possui maior desaparecimento da MO *in vitro* comparado ao colmo e as folhas da planta. Do mesmo modo, Petzel et al. (2019) ao suplementarem vacas mestiças Angus x

Simental e Angus, com folhas, colmo e palha da espiga do milho, observaram redução na digestibilidade da MS e da FDN para os animais que consumiram o colmo da planta de milho, sem diferença entre o fornecimento de folhas e da palha da espiga. Em um levantamento de dados, Watson et al. (2015) observaram maior digestibilidade *in vitro* da MS para a palha da espiga de milho (60,5% da MS) em relação a lâmina foliar (44,7% da MS) e a bainha da folha (39,8% da MS). Esses resultados indicam que o valor nutricional dos constituintes do resíduo da colheita de milho é variável, e que o resíduo fibroso da espiga do milho possui características nutritivas mais elevadas do que o resíduo fibroso da colheita do milho como um todo. Desse modo, a utilização do coproduto da indústria de sementes, composto por palha e espiga, poderia representar um potencial alimento para vacas em lactação como fonte de fibra.

A inclusão do resíduo em substituição a forragem é de forma geral a melhor maneira de utilização desse alimento, apesar de que altas inclusões desse coproduto possa limitar o consumo e o desempenho produtivo dos animais. O uso do resíduo da colheita do milho em substituição a gramíneas aparentemente não resulta em grandes perdas produtivas, quando comparado a substituição de alfafa. Além disso, apenas a substituição de um alimento por outro não é a melhor forma de inclusão do resíduo da colheita do milho, e parâmetros como teor de FDN total e de fibra fisicamente efetiva ($pe\text{FDN}$) devem ser considerados durante a formulação das dietas.

2.1.4. Polpa cítrica

A alta produção de laranja no Brasil favorece a utilização dos coprodutos obtidos a partir do processamento dessa fruta na alimentação animal. A polpa cítrica é um coproduto fibroso constituído por casca, polpa e semente da fruta (SALVADOR, 2006). Além disso, esse alimento possui alta concentração de pectina e sacarose, possuindo alta digestibilidade (HALL et al., 1999; LASHKARI; TAGHIZADEH, 2012), possibilitando sua utilização como fonte de energia para ruminantes (BRODERICK; MERTENS; SIMONS, 2002). Por isso, a utilização de polpa cítrica em substituição ao milho da dieta tem sido adotada (BRODERICK; MERTENS; SIMONS, 2002; SALVADOR et al., 2008a).

Broderick, Mertens e Simons (2002) avaliaram o fornecimento de dietas contendo milho quebrado, milho de alta umidade ensilado ou polpa cítrica (19,1% da MS) em dietas de vacas leiteiras com produção média de 41 kg de leite por dia. O

fornecimento da polpa cítrica reduziu o CMS, a produção de leite, leite corrigido para gordura e a porcentagem e produção de proteína, lactose e sólidos totais no leite relativamente ao tratamento com milho quebrado. Nesse mesmo estudo, os animais que consumiram o tratamento com polpa cítrica reduziram a produção de leite e de leite corrigido para gordura, e a produção de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite em comparação ao tratamento com milho úmido ensilado.

Hall, Larson e Wilcox (2010) avaliaram a influência da alteração da fonte de carboidratos sobre o desempenho produtivo de vacas leiteiras, em um delineamento experimental do tipo Quadrado Latino 3 x 2 com períodos de 21 dias. As fontes de carboidratos avaliadas nesse estudo foram milho moído, polpa cítrica (ao redor de 20,5% da MS) e melaço. A substituição do milho pela polpa cítrica reduziu o amido de 23,9 para 13,8% da MS dietética, sem alterar de forma significativa o CNF da dieta. A utilização da polpa cítrica tendeu a reduzir o CMS e aumentou o teor de gordura no leite relativo ao tratamento com milho moído. Por outro lado, essa substituição reduziu o teor e a produção de proteína do leite. Nesse estudo, não houve diferença estatística entre os tratamentos para a variável produção de leite, apesar da diferença de 1,8 kg/dia a mais para as vacas alimentadas com o milho moído.

Leiva, Hall e Van Horn (2000) avaliaram a substituição de milho ou glúten de milho por polpa cítrica em dois experimentos. No primeiro experimento, o milho foi substituído por 23,6% (na MS dietética) de polpa cítrica, sendo que a substituição reduziu o amido dietético de 26,5 para 15,1% na MS. Nesse caso, a substituição do milho por polpa cítrica não afetou o CMS ou a produção de leite, porém houve redução no teor de proteína do leite para os animais consumindo polpa cítrica. No segundo experimento, a polpa cítrica (20,5% na MS) substituiu o glúten de milho (19,5% na MS). A substituição manteve o teor de PB similar entre as dietas (19% da MS), porém o amido foi reduzido de 19,1% (na MS dietética) na dieta com glúten de milho para 12,9% (na MS dietética) na dieta com polpa cítrica. Os animais consumindo o tratamento glúten de milho apresentaram maior produção de leite, leite corrigido para gordura, produção de gordura e proteína, e teor de proteína no leite relativo aos animais no tratamento com polpa cítrica.

Salvador et al. (2008a) avaliaram o efeito da substituição total de milho maduro moído seco por polpa cítrica em dietas de vacas em lactação. A polpa cítrica foi incluída em ambas as dietas, sendo que o tratamento milho moído tinha 24% de polpa cítrica na MS dietética, enquanto que o tratamento com polpa cítrica tinha 33,1% na

MS. Nesse estudo, a substituição do milho reduziu o CMS. Em um segundo artigo referente ao mesmo experimento, foi observado queda na produção de leite, de proteína do leite e no teor de proteína do leite nos animais suplementados com o tratamento polpa cítrica (SALVADOR et al., 2008b). Salvador et al. (2008b) avaliaram o impacto econômico da substituição de milho moído por polpa cítrica, concluindo que mesmo com menor custo de aquisição, a rentabilidade do produtor com a utilização da polpa cítrica é menor devido a piora no desempenho lactacional. Porém, o uso do coproduto de citros pode ser financeiramente vantajoso quando o pagamento do leite é baseado apenas no volume de leite produzido (SALVADOR et al., 2008b).

A estratégia de utilização da polpa cítrica em substituição ao milho, pode reduzir o desempenho produtivo dos animais, possivelmente devido a substituição de amido por pectina (BRODERICK; MERTENS; SIMONS, 2008; SALVADOR et al., 2008b). Pereira et al. (2015) ao avaliarem o efeito da suplementação de polpa cítrica e amido de milho para vacas leiteiras, observaram maior velocidade de queda do pH ruminal com a suplementação de polpa cítrica do que com amido de milho. Nesse mesmo trabalho, o valor mínimo do pH ruminal quando polpa cítrica foi ofertada foi inferior ao pH mínimo dos animais suplementados com milho, sugerindo que a pectina foi mais rapidamente degradada do que o amido do milho. Além disso, ao avaliarem o crescimento microbiano utilizando de diferentes fontes de CNF, Hall e Heredjk (2001) demonstraram que o amido promove maior produção microbiana quando comparado a pectina e a sacarose, podendo justificar a queda no teor e produção de proteína do leite quando milho é substituído por polpa cítrica.

Da mesma forma, a substituição de coprodutos do milho por polpa cítrica pode afetar de forma negativa a resposta produtiva de vacas em lactação (LEIVA; HALL; VAN HORN, 2000), provavelmente devido a diferença na qualidade proteica entre esses coprodutos. Nesse sentido, estudos avaliando o efeito do aumento na disponibilidade de aminoácidos essenciais para a glândula mamária constataram que os mesmos são capazes de favorecer a síntese mamária de proteína, melhorando o desempenho lactacional (ARRIOLA APELO; KNAPP; HANIGAN, 2014; YODER et al., 2019, 2020). De toda forma, o preço de aquisição da polpa cítrica é inferior ao do milho, o que pode viabilizar sua utilização na alimentação de vacas em lactação quando a diferença nos custos de compra compensar a redução na produção.

2.1.5. Resíduo de *Aspergillus niger*

O ácido cítrico, identificado inicialmente no suco de limão, tem se destacado na indústria alimentícia devido sua capacidade de atribuir sabor, alterar a cor e reduzir a deterioração dos alimentos (MORES et al., 2020; MAX et al., 2010). Além disso, o ácido cítrico possui aplicações na indústria farmacêutica, sendo utilizado na produção de medicamentos e cosméticos (VANDENBERGHE et al., 2017).

A produção atual de ácido cítrico é baseada na utilização de microorganismos, sendo o *Aspergillus niger* a principal espécie utilizada devido sua capacidade de produzir altas quantidades de ácido cítrico a partir de substratos de baixo custo (MAX et al., 2010; MORES et al., 2020; PAPAGIANNI, 2007). Durante o processo de produção do ácido cítrico são gerados resíduos líquidos, micélio de fungos e sais de potássio, sendo possível a utilização desses resíduos no meio agropecuário (VANDENBERGHE et al., 2017).

O resíduo do *Aspergillus niger* é um coproduto fibroso com teor de FDN próximo de 72,4% da MS, com alta digestibilidade, e PB ao redor de 11,6% da MS (ELIYAHU et al., 2015). Essas características nutricionais permitem a utilização desse coproduto fibroso na alimentação animal. Eliyahu et al. (2015) avaliaram o efeito do fornecimento de coprodutos úmidos ensilados sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes em ovelhas. Nesse estudo, os coprodutos utilizados foram o resíduo de *Aspergillus niger*, polpa de uva, abacate e romã, e resíduo de soja (okara), com inclusão média desses alimentos nas dietas de 20% da MS. O CMS foi maior nos animais consumindo a dieta com polpa de uva, e intermediário para os animais consumindo o resíduo de *Aspergillus niger* em relação aos demais tratamentos. O fornecimento do resíduo de *Aspergillus niger* resultou em 75% de digestibilidade aparente no trato total da MS, 77% de digestibilidade da MO e 80% de digestibilidade da FDN, valores acima dos obtidos nos tratamentos com polpa de uva e de abacate.

Apesar da possibilidade de utilização desse coproduto em dietas de ruminantes, pouco se sabe sobre os efeitos do uso do resíduo de *Aspergillus niger* na alimentação animal. Além disso, a caracterização desse alimento é importante para definir a melhor forma de utilização e como esse coproduto pode afetar o desempenho produtivo de vacas em lactação.

2.2. Impacto da alteração da fonte de fibra em dietas de vacas leiteiras

2.2.1. Efeitos da fonte de fibra na digestibilidade ruminal da FDN

A alteração da fonte de fibra, coprodutos fibrosos ou forragens, em dietas de ruminantes pode afetar o ambiente ruminal e a digestibilidade dos nutrientes no rúmen (ALLEN; GRANT, 2000; PEREIRA; ARMENTANO, 2000). Apesar dos coprodutos fibrosos serem fonte de fibra altamente digestível no rúmen (ALLEN; GRANT, 2000; ARMENTANO; PEREIRA, 1997) seu uso como substitutos de forragens em dietas de vacas leiteiras pode reduzir a digestibilidade ruminal da FDN (FIRKINS, 1997). A redução na digestibilidade da fibra no rúmen está relacionada a capacidade desses alimentos em reduzir o tamanho de partículas da dieta (BODDUGARI et al., 2001; SULLIVAN; GRIGSBY; BRADFORD, 2012) e em aumentar a taxa fracional de passagem dos alimentos pelo rúmen (ALLEN; GRANT, 2000; FIRKINS, 1997), quando fontes de fibra não forrageiras substituem as forragens. A maior taxa fracional de passagem das fontes de fibra não forrageira tem sido associada ao seu menor tamanho de partículas e a sua densidade específica, que favorecem a passagem pelo orifício retículo omasal (ALLEN; GRANT, 2000; WEIDNER; GRANT, 1994). Além disso, a consistência do mat ruminal é menor quando fontes de fibra não forrageira substituem forragens (ALLEN; GRANT, 2000; WEIDNER; GRANT, 1994), reduzindo o tempo de retenção no rúmen e conseqüentemente o tempo para digestão (GRANT, 1997).

Allen e Grant (2000) ao substituírem feno de alfafa e silagem de alfafa por FGMU (24,4% da MS) em dietas de vacas leiteiras fistuladas no rúmen, observaram aumento na taxa fracional de passagem de 4,20 para 6,40% por hora com o uso do coproduto fibroso. Nesse mesmo estudo, o uso do FGMU reduziu a resistência do mat ruminal e o pH médio do líquido ruminal relativamente ao tratamento com alfafa. De forma similar, foi observada redução na resistência do mat ruminal quando 25% (na MS dietética) de casquinha de soja substituiu silagem de milho e de alfafa na dieta de vacas leiteiras fistuladas no rúmen (WEIDNER; GRANT, 1994).

Além disso, a redução do tamanho de partículas das dietas quando forragens são substituídas por fontes de fibra não forrageira pode reduzir o pH ruminal e alterar o perfil de ácidos graxos voláteis (**AGV**) produzidos no rúmen. Pereira e Armentano (2000) avaliaram o fornecimento dos tratamentos: 1) baixa inclusão de FDN de forragem (12,6% da MS dietética) sem coprodutos fibrosos (farelo de trigo, resíduo

de cervejaria e farelo de glúten de milho); 2) inclusão de 21,7% da MS dietética de coprodutos fibrosos em dieta com baixa FDN de forragem; 3) inclusão de 43,8% da MS dietética de coprodutos fibrosos em dieta com baixa FDN de forragem; e 4) dieta com alta FDN de forragem (20,1% da MS dietética) através da substituição dos coprodutos fibrosos por silagem de alfafa, para vacas em lactação. O tratamento com alta inclusão de coprodutos reduziu a proporção de acetato, valerato e isobutirato, e aumentou a proporção de propionato e valerato no líquido ruminal relativamente ao tratamento com silagem de alfafa. Nesse trabalho, a dieta com alta inclusão de coprodutos fibrosos tendeu a reduzir o pH médio do rúmen (6,06 vs. 6,19) e em aumentar o tempo de pH ruminal abaixo de 6,0 (340 vs. 247 min) em comparação ao tratamento com alta FDN de forragem e silagem de alfafa. Além disso, a dieta com alta FDN de forragem aumentou a fração potencialmente digestível da MS e da FDN *in situ* da silagem de milho e de alfafa, reduzindo a fração indigestível dessas entidades relativamente a dieta com baixa FDN de forragem e alta inclusão de coprodutos fibrosos.

Desse modo, a digestibilidade da fibra no rúmen pode ser afetada pelo pH ruminal, devido a toxicidade dos AGV para as bactérias fibrolíticas nessas condições (GRANT; MERTENS, 1992; RUSSELL; WILSON, 1996). Mould e Orskov (1983) ao infundirem soluções ácidas no rúmen de ovelhas, observaram redução na atividade celulolítica quando o pH foi menor do que 6,3, com completa inibição da atividade celulolítica quando o pH ruminal foi menor do que 6,0. A combinação desses fatores justificam a redução na digestibilidade da fibra no rúmen quando coprodutos fibrosos são fornecidos para vacas em lactação como substitutos de forragem. Portanto, o aumento na taxa fracional de passagem com o uso de coprodutos fibrosos pode favorecer uma maior passagem de fibra potencialmente digestível para o intestino, aumentando a contribuição da digestão da fibra no intestino grosso sobre a digestibilidade da FDN no trato total (FIRKINS, 1997). Além disso, outros fatores dietéticos, como teor de FDN de forragem, tamanho de partículas e fermentabilidade da dieta, podem afetar a degradação da fibra no rúmen quando se fornece fontes de fibra não forrageira para vacas em lactação.

2.2.2. Efeito da fonte de fibra no CMS

O aumento na taxa de passagem com o fornecimento de fontes de fibra não forrageira para vacas em lactação como substitutos de forragem pode aumentar o

CMS (MULLINS et al., 2010; SULLIVAN; GRIGSBY; BRADFORD, 2012). Darabighane et al. (2020) realizaram uma meta análise avaliando o efeito da inclusão de FGM em dietas de vacas leiteiras. Nesse estudo foram utilizados dados de 13 experimentos, sendo 12 deles avaliando a substituição de forragem e concentrado e um avaliando a substituição apenas de concentrado por FGM. Os resultados dessa meta análise indicam que o uso do FGM em dietas de vacas em lactação em geral aumenta o CMS. Do mesmo modo, Sullivan, Grigsby e Bradford (2012) ao substituírem silagem de milho, feno de alfafa e concentrado por FGMU nas proporções de 12,4, 24,5 e 35,1% da MS, observaram redução na FDN de forragem de 18,5 para 13,2% da MS dietética, com aumento na FDN total de 27,4 para 30,6% da MS. A inclusão do coproduto afetou o CMS de forma quadrática, sendo observado maior consumo para o tratamento com 24,5% de inclusão do coproduto fibroso.

Mertens (1994) propôs que o CMS de vacas em lactação seria limitado pela demanda energética (consumo de energia) e pelo consumo de FDN, assumindo que o consumo de FDN está associado ao enchimento do trato gastro intestinal. Porém, não apenas a quantidade de FDN presente no conteúdo do trato gastro intestinal, mas o volume ocupado, afeta o consumo dos animais (MERTENS, 1994), sendo a distensão do retículo-rúmen considerado o principal local responsável pela limitação física do consumo (ALLEN, 2000). Nesse sentido, Pereira e Armentano (1999) forneceram os tratamentos: alta inclusão de coprodutos fibrosos (farelo de trigo, resíduo de cervejaria e farelo de glúten de milho; 43,8% da MS dietética) com baixa FDN de forragem (12,6% da MS dietética) e dieta com alta FDN de forragem (20,1% da MS dietética) através da substituição dos coprodutos fibrosos por silagem de alfafa para vacas em lactação fistuladas no rúmen. Nesse estudo, a dieta com os coprodutos fibrosos possuía 35,7% de FDN na MS, enquanto a dieta com silagem de alfafa possuía 25,2% de FDN na MS. Não houve diferença no conteúdo de FDN no rúmen (kg) entre os tratamentos, porém a dieta com silagem de alfafa aumentou o volume (L) e peso (kg) do conteúdo ruminal relativamente a dieta com os coprodutos. Esses resultados sugerem que a maior taxa fracional de passagem dos coprodutos fibrosos aumenta o *turnover* de FDN para o rúmen, reduzindo o pool de FDN no conteúdo ruminal, e que a FDN de forragem pode ser o primeiro fator a limitar o consumo por enchimento do trato gastro intestinal.

Dessa forma, segundo a teoria de limitação de consumo de Mertens (1994), redução da FDN de forragens das dietas podem aumentar o consumo dos animais

quando os mesmos estão sob limitação física do consumo, e queda no CMS será observado caso os animais estejam sob limitação metabólica. Portanto, mesmo mantendo a concentração de FDN similar entre as dietas, a substituição de forragens por fontes de fibra não forrageira podem reduzir o enchimento do trato gastro intestinal devido seu menor tamanho de partículas e maior taxa fracional de passagem, aumentando o CMS quando vacas em lactação estão limitadas fisicamente.

2.3. Fibra fisicamente efetiva para vacas em lactação

Os alimentos fibrosos diferem quanto a composição química e atributos físicos, sendo esses essenciais para manter a saúde ruminal. Por isso, a exigência de fibra não é dada somente pela concentração desse nutriente na dieta, mas também por suas características físicas essenciais para promover a saúde ruminal. Por esse motivo, o NRC (2001) recomenda que dietas para vacas leiteiras tenham no mínimo 25% de FDN na MS, sendo que 19% seja oriundo de forragens. Porém, a recomendação não é fixa e o teor dietético de FDN total deve ser alterado quando o mínimo de FDN de forragem não for atendido. De forma geral, o NRC (2001) considera toda a FDN oriunda de forragens capaz de estimular a ruminação e manter o rúmen saudável. Nesse sentido, Mertens (1997) definiu a $peFDN$ como a FDN capaz de influenciar a atividade mastigatória e a natureza do conteúdo ruminal, e propôs a utilização das partículas retidas acima de 1,18 mm ($peFDN_{>1,18}$), obtidas com o peneiramento vertical, como parâmetro para atribuir efetividade a fibra dos alimentos. Na mesma época, Lammers, Buckmaster e Heinrichs (1996) propuseram a utilização do separador de partículas da Penn State (**SPPS**), e a distribuição das partículas em acima de 19 mm, entre 19 e 8 mm e menores do que 8 mm, utilizando a porção de partículas retidas acima de 8 mm para estimar a $peFDN$ dos alimentos ou dietas ($peFDN_{>8}$). De forma geral, essas metodologias consistem em multiplicar a proporção do material retido acima da peneira de 1,18 ou 8 mm pelo conteúdo de FDN do alimento ou dieta, assumindo que a FDN é uniformemente distribuída em todas as partículas independente de seu tamanho (ZEBELI et al., 2012).

O uso dessas metodologias tem sido adotado como forma de avaliar como a alteração na $peFDN$ das dietas influencia a resposta produtiva e o consumo de vacas leiteiras. Além disso, a redução do tamanho de partículas da dieta pode afetar o comportamento ingestivo dos animais e o processo fermentativo que ocorre no rúmen

(BEAUCHEMIN; YANG, 2005; YANG; BEAUCHEMIN, 2006). O tempo mastigando por unidade de MS ingerida aumentou linearmente quando vacas lactantes foram alimentadas com dietas que variaram a $peFDN_{>1,18}$ de 31,7 para 32,1% da MS dietética (KONONOFF; HEINRICHS; LEHMAN, 2003). Ao fornecer dietas com 12,3, 11,1 e 10,1% de $peFDN_{>8}$ e 34,8% de amido na MS para vacas em lactação, Beauchemin e Yang (2005) observaram aumento linear no tempo mastigando (min/dia) e tendência em aumento do tempo ruminando e ingerindo (min/dia) com o aumento da $peFDN_{>8}$, sem afetar o CMS, os parâmetros de acidose ruminal e o tempo de retenção da dieta no rúmen. Do mesmo modo, o aumento da $peFDN_{>8}$ de 10,8 para 17,6% da MS dietética aumentou linearmente o pH ruminal, apesar de não ter afetado o CMS, produção de leite, teor de gordura no leite e o fluxo e a digestibilidade de nutrientes (LI; BEAUCHEMIN; YANG, 2020).

Yang e Beauchemin (2006) observaram aumento linear no tempo ingerindo, ruminando e mastigando por kg de $peFDN_{>8}$ consumida, e no tempo ruminando (min/dia) quando vacas em lactação foram alimentadas com dietas contendo 45,8% da MS dietética de silagem de milho com $peFDN_{>8}$ de 10,0, 14,8 e 17,6% da MS. Porém, o aumento da $peFDN_{>8}$ não afetou o CMS e a concentração de sólidos no leite. O aumento na $peFDN_{>8}$ de 10,4 para 11,7% na MS dietética de vacas leiteiras em meio de lactação não afetou o CMS, digestibilidade dos nutrientes e a produção de leite, mas houve queda no consumo de FDN e aumento no tempo mastigando por kg de FDN consumida nas dietas com maior $peFDN_{>8}$ (ASADI ALAMOUTI et al., 2009). Do mesmo modo, Sá Neto et al. (2014) ao avaliarem o fornecimento de dietas com 11,9 e 8,9% de $peFDN_{>8}$ obtidas através da substituição de silagem de milho por silagem de cana de açúcar para vacas em lactação, observaram aumento no tempo mastigando por kg de $peFDN_{>8}$ consumida, sem afetar o comportamento de seleção, o desempenho lactacional e o CMS com o aumento da $peFDN_{>8}$.

As diferentes metodologias adotadas para estimar a $peFDN$ podem afetar a capacidade de prever as respostas fisiológicas nos animais quando se altera a $peFDN$ das dietas (Zebeli et al., 2008, 2010). Nesse contexto, Zebeli et al. (2012) compararam o uso da $peFDN$ obtida com as partículas acima de 1,18 e de 8 mm para prever a resposta animal e o risco de acidose. Nessa revisão os autores observaram resultados similares entre os métodos de avaliação quanto à capacidade de manter o pH ruminal. Porém, para estimar os parâmetros da atividade mastigatória (ruminação e ingestão) e o nível de consumo, o uso da $peFDN_{>8}$ foi mais preciso.

Sendo assim, a recomendação de $peFDN_{>8}$ na dieta seria entre 14,9 e 18,5% da MS dietética, com o objetivo de conciliar o consumo e o pH ruminal, evidenciando que a $peFDN_{>8}$ prediz de forma mais adequada o enchimento físico do rúmen do que a $peFDN_{>1,18}$ (ZEBELI et al., 2012). Porém, o uso da $peFDN_{>8}$ possui alguns entraves como a não padronização da distribuição das partículas na MS ou MN e o conceito de que a FDN não varia entre o material retido em cada peneira (WHITE et al., 2017a).

White et al. (2017a) em meta-análise, avaliaram trabalhos que possuíam o teor de MS e de FDN das frações dietéticas retidas em cada peneira do SPPS, e observaram que a FDN do retido acima de 8 mm ou acima de 1,18 mm se difere da FDN total da amostra, sendo ainda incorreto assumir que expressar a distribuição de partículas na MN é similar a distribuição de partículas na MS. Nesse sentido, Yang e Beauchemin (2006) ao calcularem a $peFDN_{>8}$ utilizando a FDN total da dieta obtiveram valores de 17,6, 14,8 e 10,0% na MS, enquanto que ao se utilizar a FDN analisada em cada peneira os valores foram 22,2, 18,8 e 11,9% de $peFDN_{>8}$ na MS dietética, resultando em um aumento médio de 3,5% de $peFDN_{>8}$ nas dietas. De forma similar, o cálculo da $peFDN_{>8}$ utilizando a análise da FDN da dieta retida em cada peneira resultou em valor médio de 21,7% da MS dietética enquanto que ao se utilizar a FDN total da dieta o valor foi de 18,0% na MS dietética (BHANDARI et al., 2007). Do mesmo modo, Einarson, Plaizier e Wittenberg (2004) ao alterarem o tamanho de corte da cevada obtiveram dietas com 18,9, 21,2, 24,6 e 29,5% de $peFDN_{>8}$ na MS, utilizando a FDN da dieta, porém ao utilizarem a FDN analisada em cada peneira para calcular a $peFDN_{>8}$ observaram aumento de 6,3, 8,0, 6,0 e 5,4% em cada dieta estudada. Além disso, outros fatores como o tipo de grão, a inclusão de concentrados e a digestibilidade dos alimentos, alteram a capacidade de prever os efeitos da $peFDN$ na fermentação ruminal, prevenção da acidose subclínica e no comportamento ingestivo dos animais (ZEBELI et al., 2012).

White et al. (2017b) ao utilizarem de métodos multifatoriais, descreveram os parâmetros tamanho de partículas, concentração dietética de FDN e amido, degradação ruminal da FDN e do amido, FDN de forragem e a relação fibra em detergente ácido:FDN como variáveis-chaves para estimar o pH ruminal. Com isso, concluíram que fatores como teor de amido e de FDN de forragem na dieta e MS retida acima de 19 mm no SPPS interagem e influenciam na inclusão de partículas maiores ou iguais a 8 mm (% da MS) nas dietas de vacas leiteiras. Portanto, o aumento na concentração dietética de amido resulta em maior demanda de partículas

maiores do que 8 mm ou FDN de forragem, e dietas com maior inclusão de FDN de forragem reduz a necessidade de partículas maiores do que 8 mm (WHITE et al., 2017b).

Apesar de existirem formas de atribuir efetividade à fibra, não existe um método padrão utilizado, devido à dificuldade de se conciliar os vários fatores que influenciam na capacidade dessa entidade em estimular a ruminação e mastigação em ruminantes, e em evitar a queda do pH ruminal em um único método de avaliação. De acordo com os resultados, o uso da FDN total do alimento ou dieta para estimar a $peFDN$ resulta em valores subestimados em relação o valor real calculado com a utilização da FDN analisada em cada peneira, essa variação é decorrente da discrepância na concentração de MS e FDN em cada tamanho de partículas. Além disso, não se tem uma única recomendação de $peFDN$, pois essa é afetada por diversos fatores dietéticos.

2.3.1. Efetividade da fibra de coprodutos fibrosos

O uso de coprodutos fibrosos em substituição a forragem e a forragem e concentrado pode afetar o tamanho de partículas, a $peFDN$, e a concentração de FDN total das dietas (MULLINS et al., 2010; SULLIVAN; GRIGSBY; BRADFORD, 2012; REZAC et al., 2012). Desse modo, ao avaliar a efetividade física da FDN do FGMU Allen e Grant (2000) observaram que a capacidade desse alimento em estimular o aumento do pH ruminal é de apenas 13% se comparado ao efeito da silagem de alfafa. Concomitante a isso, as fontes de fibra não forrageira apresentam maior degradação ruminal da FDN comparado as forragens (ARMENTANO; PEREIRA, 1997). Esses resultados indicam que a substituição de forragem por coproduto fibroso pode afetar a atividade de ruminação, digestibilidade de nutrientes e a saúde ruminal.

Bodugari et al. (2001) avaliaram a inclusão de 45,3, 53,4, 61,6 e 69,6% na MS dietética do coproduto do processamento úmido do milho (**CPUM**) em substituição a todo o concentrado e parte da forragem (silagens de alfafa e de milho). Essa substituição resultou no aumento de 43,8 para 65,8% (na MN) das partículas dietéticas retidas abaixo de 8 mm, com redução no tempo ruminando por kg de FDN consumida, sem afetar o tempo mastigando, ingerindo e ruminando por dia. Nesse mesmo trabalho, houve menor proporção molar de acetato ruminal nos animais do tratamento 69,6% de CPUM comparado ao tratamento 53,4%. Do mesmo modo, o tratamento 69,6% de CPUM resultou em menor pH ruminal médio comparado aos

demais tratamentos. O fornecimento do CPUM aumentou a digestibilidade da FDN no trato total relativamente ao tratamento controle. Nesse mesmo estudo, resultados de um experimento avaliando a substituição de milho e farelo de soja por inclusão crescente (0, 21,9, 33,8 e 45,3% na MS) do CPUM foram descritos. Nesse caso, as vacas alimentadas com o coproduto aumentaram o tempo ruminando por dia e por kg de FDN consumida, com aumento no total de AGV no rúmen, sem afetar a digestibilidade da MS e FDN no trato total. Os resultados da substituição de apenas concentrado por CPUM foram justificados pelo aumento da FDN (28,2 para 41,6% na MS) e redução no CNF (43,2 para 29,4% na MS) com o aumento da inclusão do coproduto.

De maneira similar, Sullivan, Grigsby e Bradford (2012) observaram aumento linear das partículas dietéticas retidas entre 1,18 e 8 mm, e queda linear nas partículas da dieta retidas acima de 19 mm e abaixo de 1,18 mm, quando forragem (silagem de milho e feno de alfafa) e concentrado foram substituídos por FGMU nas proporções de 0, 12,4, 24,5 e 35,1% da MS. Nesse estudo, foi observado queda na seleção a favor das partículas pequenas (<1,18 e entre 1,18 e 8 mm) e aumento na seleção a favor das partículas maiores (>19 e entre 8 e 19 mm) com o aumento da inclusão do coproduto. Essas alterações resultaram em queda linear na concentração de acetato, isobutirato, isovalerato e na relação acetato:propionato com aumento linear do valerato no rúmen com a inclusão crescente do FGMU, sem afetar o pH médio e o tempo de pH abaixo de 5,8 ou 5,6.

Mullins et al. (2010) observaram redução nas partículas retidas entre 8 e 19 mm, e aumento das partículas retidas abaixo de 8 mm quando FGMU substituiu a forragem (silagem de milho e feno de alfafa) e o concentrado da dieta em 23 e 34% da MS. Nesse mesmo estudo, a inclusão de 11% de FGMU em substituição ao concentrado não afetou a distribuição de partículas das dietas. O aumento na inclusão do coproduto do milho (0 para 34% da MS) reduziu de forma linear a concentração de acetato, isovalerato e o pH ruminal, com aumento linear na concentração de propionato e valerato.

Kelzer et al. (2009) avaliaram o fornecimento de dietas contendo 15% (na MS dietética) de DDGS e farelo de gérmen de milho, e 14,4% (na MS dietética) de GDAP em substituição parcial ao pré secado de alfafa, farelo de soja e milho moído com dietas sem a adição dos coprodutos. Nesse estudo a dieta controle resultou em 61,9% (da MS) de partículas retidas abaixo de 8 mm, enquanto que a inclusão do DDGS

aumentou a proporção de partículas retidas abaixo de 8 mm para 67% (da MS). Os autores não observaram alteração no pH médio do rúmen, concentração molar de propionato e de AGV totais no rúmen. Porém, o fornecimento dos coprodutos resultou em queda na concentração molar de acetato e isovalerato no conteúdo ruminal, sendo que o DDGS resultou em queda na relação acetato:propionato relativamente aos outros tratamentos.

A falta de padronização ao se calcular a $peFDN$ também afeta a estimativa da efetividade física dos coprodutos fibrosos e conseqüentemente das dietas compostas por esses alimentos. Behgar et al. (2011) ao utilizarem a peneira de 1,18 mm para calcular a $peFDN_{>1,18}$ do feno de alfafa e da casquinha de soja observaram valores de 38,5% para o coproduto e de 30,9% para a forragem picada de forma grosseira, sendo que a casquinha de soja não apresentou partículas maiores ou iguais a 8 mm. Nesse estudo, as dietas com o coproduto apresentaram 3,7% a mais de $peFDN_{>1,18}$ do que as dietas com o feno de alfafa, porém os animais que consumiram a casquinha de soja tiveram menor teor de gordura no leite, e menor tempo ingerindo e mastigando por unidade de $peFDN_{>1,18}$ consumida.

Esmieli et al. (2016) realizaram um levantamento de dados em 15 fazendas iranianas, onde foram correlacionados vários parâmetros dietéticos sobre a capacidade de prever a $peFDN$. Nesse levantamento, foram observados coeficientes de correlação de 0,61 para a inclusão de forragem, de -0,82 para a inclusão de concentrado em prever a $peFDN_{>8}$, e de 0,39 e -0,63 para prever a $peFDN_{>1,18}$, sendo que a inclusão de forragem não foi capaz de prever a $peFDN_{>1,18}$. Os resultados evidenciam que o uso da peneira de 1,18 pode atribuir efetividade física aos coprodutos fibrosos, mesmo que isso não ocorra ao utilizar a peneira de 8 mm. Além disso, a substituição de FDN de forragem por FDN de coprodutos pode reduzir o tamanho de partículas e a $peFDN$ das dietas. Porém, ao se substituir o concentrado o tamanho de partículas da dieta não é afetado e as alterações na resposta animal podem ser relacionadas a substituição de CNF por FDN.

2.3.2. Influência da $peFDN$ no teor e produção de gordura do leite de vacas lactantes

O tamanho de partículas e a fibra fisicamente efetiva das dietas podem influenciar o teor de gordura no leite (MERTENS, 1997; ZEBELI et al., 2008). Em meta análise, Zebeli et al. (2008) buscaram correlacionar características físicas e a composição de dietas utilizadas na alimentação de vacas em lactação com

parâmetros ruminais e produtivos. Nesse estudo, a $peFDN_{>1,18}$ variou de 4,24 para 40,6% da MS dietética, com média de 24,1% na MS da dieta, sendo o teor de gordura no leite positivamente correlacionado com a $peFDN_{>1,18}$ das dietas.

Do mesmo modo, ao fornecerem dietas para vacas em início de lactação variando a $peFDN_{>1,18}$ de 31,3% para 31,9% da MS da dieta e mantendo a inclusão de forragem (57,4% da MS) similar entre os tratamentos, Kononoff e Heinrichs (2003) observaram tendência em aumento no teor de gordura do leite de 3,46% para 3,55% com o aumento da $peFDN_{>1,18}$, sem efeito dos tratamentos na produção de gordura. De forma similar, Kononoff, Heinrichs e Lehman (2003) avaliaram a influência da alteração na $peFDN_{>1,18}$ sob o desempenho lactacional de vacas leiteiras. Os tratamentos forneceram 31,7, 31,9, 32,0 e 32,1% de $peFDN_{>1,18}$ na MS dietética, em dietas com 57,4% (na MS dietética) de forragem (apenas silagem de milho) e cerca de 33% de FDN na MS. Nesse estudo, houve comportamento quadrático para o teor e a produção de gordura do leite, com o tratamento com 32,0% de $peFDN_{>1,18}$ resultando em maior teor de gordura no leite (4,0%). De acordo com Mertens (1997), para manter o teor de gordura do leite de vacas em início e meio de lactação em 3,4%, seria necessário uma dieta com 20% de $peFDN_{>1,18}$.

Por outro lado, o fornecimento de dietas com 11,5, 10,3 e 8,9% de $peFDN_{>8}$ na MS dietética para vacas holandesas lactantes não afetou o teor e a produção de gordura do leite (YANG; BEAUCHEMIN, 2005). Nesse trabalho, a composição da dieta foi similar entre os tratamentos, com 41,9% (na MS dietética) de forragem e 20% de FDN de forragem (na MS dietética). Contudo, o teor de gordura nesse estudo foi abaixo de 3% em todos os tratamentos, sugerindo que a $peFDN_{>8}$ fornecida nas dietas não atendia o requerimento dos animais (ZEBELI et al 2012). Além do conteúdo de $peFDN$, outros parâmetros dietéticos como digestibilidade do amido no rúmen e inclusão de FDN de forragem, podem afetar a resposta no teor de gordura do leite e na produção de gordura de vacas leiteiras (NASROLLAHI; IMANI; ZEBELI, 2015; ZEBELI et al., 2006).

O aumento na concentração de gordura no leite com o aumento da $peFDN$ está diretamente ligada a sua capacidade de reduzir a susceptibilidade dos animais a acidose ruminal (BEAUCHEMIN; YANG, 2005; YANG; BEAUCHEMIN, 2006; ZEBELI et al., 2012). Isso ocorre pois, em condições de pH baixo a rota de biohidrogenação do ácido linoleico é alterada, passando a produzir o ácido linoleico conjugado (**CLA**) C18:2 trans-10, cis-12 como intermediário desse processo (FERLAY et al., 2017).

Baumgard et al. (2000) infundiram os CLA C18:2 trans-10, cis-12 (1,1 g/dia) e C18:2 cis-9, trans-11 (0,7 g/dia) diretamente no abomaso de vacas em lactação por 4 dias consecutivos, e compararam esses tratamentos ao tratamento controle (sem infusão de CLA). Nesse estudo, a infusão abomasal de C18:2 trans-10, cis-12 reduziu o teor e a produção de gordura relativo aos demais tratamentos, não sendo observado diferença entre o tratamento controle e o tratamento C18:2 cis-9, trans-11.

Do mesmo modo, Baumgard et al. (2002) avaliaram o efeito da infusão abomasal de C18:2 trans-10, cis-12 (13,6 g/dia) por 5 dias consecutivos, em relação aos animais no tratamento controle, sob os parâmetros produção de leite e componentes do leite, e a abundância de RNAm de enzimas responsáveis pela síntese de novo na glândula mamária. A infusão do CLA reduziu o teor de gordura no leite de 3,13 para 1,80%, e a produção de gordura do no leite de 618 para 320 g/dia relativamente aos animais do tratamento controle. Além disso, houve redução na abundância do RNAm de enzimas chaves envolvidas na síntese mamária de gordura, como a Δ -9 dessaturase.

Sendo assim, a utilização de coprodutos fibrosos em substituição as forragens pode reduzir o tamanho de partículas e a pe FDN das dietas, alterando a atividade de ruminação. Além disso, a associação desses fatores com a maior digestibilidade ruminal dos coprodutos aumenta a probabilidade de queda do pH ruminal e consequentemente do teor e produção de gordura no leite. Portanto, balancear o fornecimento pe FDN e a digestibilidade ruminal dos carboidratos quando se faz uso de coprodutos fibrosos em substituição a forragens é importante visando maximizar o desempenho produtivo de vacas em lactação.

2.4. Ensilagem de coprodutos úmidos

Os coprodutos, ao serem obtidos na indústria, possuem alta umidade o que pode limitar o seu uso na alimentação animal devido a proliferação de fungos (MJOUN; KALSCHEUR; GARCIA, 2011). Sendo assim, o uso desse tipo de alimento em pequenas propriedades faz com que haja a necessidade de conservar esses coprodutos, já que o uso diário é baixo e o período de utilização se estende por vários dias. A ensilagem pode ser uma estratégia de conservar os coprodutos úmidos, porém a conservação desses alimentos ocorre devido ao pH inicial baixo, e não através da fermentação (GARCIA; KALSCHEUR, 2004). Os GDU, FGMU e o resíduo

de *Aspergillus niger* são coprodutos que apresentam alta umidade, características ácidas e baixa concentração de carboidratos solúveis, fatores que limitam a fermentação durante o armazenamento (ELIYAHU et al., 2015; ERICKSON et al., 2008; NI et al., 2017). Outro fator que pode limitar a ensilagem desses alimentos é a dificuldade de compactação e as perdas decorrentes da produção de efluentes que ocorrem devido a alta umidade quando o material é ensilado em silos do tipo trincheira (ERICKSON et al., 2008; MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; NISHINO; HARADA; SAKAGUSHI, 2003).

Por esses motivos, a utilização de aditivos biológicos como fenos, resíduo da colheita do milho, palha de trigo e casquinha de soja em conjunto com os coprodutos úmidos na ensilagem pode ser uma alternativa de evitar ou reduzir as perdas que ocorrem na ensilagem de alimentos de alta umidade (GARCIA; KALSCHEUR, 2004; PAN et al., 2014; STROHBEHN et al., 2008). A ensilagem de GDU com planta inteira de milho nas proporções 75:25 e 50:50 (planta inteira de milho:GDU) resultou em pH médio de 4,0 e 3,9 após 129 dias de armazenamento (MJOUN; KALSCHEUR; GARCIA, 2011). Do mesmo modo, Zhang et al. (2020) ao ensilarem dieta completa composta por 35,6% da MS de resíduo da colheita de milho, 8,59% da MS de FGMU, 30,9% da MS de silagem de milho e 24,9% da MS de concentrado por 30 dias observaram pH abaixo de 4,3 para todas as silagens avaliadas. Os resultados sugerem que o uso dessa estratégia propicia queda do pH para valores próximos de 4,0, parâmetro relacionado com adequada conservação do alimento ensilado (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

2.4.1. Estabilidade aeróbica

A ensilagem de coprodutos úmidos com aditivos biológicos pode resultar na melhora da estabilidade aeróbica em relação ao material ensilado individualmente ou a forrageiras normalmente utilizadas (MJOUN; KALSCHEUR; GARCIA, 2011; NISHINO; HARADA; SAKAGUSHI, 2003). A estabilidade aeróbica das silagens tem sido definida como o tempo necessário para que a temperatura da silagem ultrapasse a ambiente em 2°C (RANJIT; KUNG JR., 2000). O aumento da temperatura das silagens durante a exposição ao ar ocorre devido ao metabolismo dos microorganismos deterioradores (ZHANG et al., 2020), sendo o primeiro pico de temperatura associado ao crescimento de leveduras e bactérias acéticas, e o segundo pico decorrente do desenvolvimento de fungos (WILKSON; DAVIS, 2012).

Além da temperatura, outros parâmetros podem ser utilizados para avaliar a estabilidade aeróbica das silagens, como a variação do pH, crescimento de microorganismos aeróbios e produção de CO₂ (MUCK; O'KIELY, 1992; O'KIELY; MUCK, 1992; WILKINSON; DAVIS, 2012).

Mjoun, Kalscheur e Garcia (2011) ao ensilarem milho planta inteira com GDU nas proporções 100:00, 75:25, 50:50 e 00:100 planta de milho:GDU, observaram aumento em cerca de 250 horas na estabilidade aeróbica de GDU ensilado com planta inteira de milho em comparação a silagem de planta inteira de milho. Do mesmo modo, o FGMU ensilado sozinho por 60 dias permaneceu estável por 84 horas após a exposição ao ar, enquanto que a silagem desse coproduto com gramínea ou alfafa refletiu no aumento da estabilidade aeróbica para 258 e 274 horas, respectivamente (PAN et al., 2014).

A melhora na estabilidade aeróbica da silagem pode estar relacionada a presença de ácidos (MOON, 1983; PAHLOW et al., 2003; WANG; NISHINO, 2008), população de microorganismos deterioradores (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; MUCK; O'KIELY, 1992; RANJIT; KUNG JR., 2000) e disponibilidade de substratos para o crescimento desses microorganismos após a abertura do silo (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; PAHLOW et al., 2003; RANJIT; KUNG JR., 2000). Esses fatores estão diretamente ligados ao crescimento de leveduras, microorganismos considerados iniciadores do processo de deterioração (RANJIT; KUNG JR., 2000; WOOLFORD, 1984). As leveduras em presença de oxigênio podem consumir o lactato e produzir compostos menos ácidos como produtos finais, aumentando o pH da silagem e favorecendo o crescimento de outros microorganismos deterioradores anteriormente inibidos pela condição de pH baixo (WILKSON; DAVIS, 2012).

De forma geral, grande parte dos fatores que influenciam na estabilidade aeróbica dos alimentos conservados são produzidos durante o processo fermentativo que ocorre no silo. Sendo assim, a atividade de bactérias, principalmente as do ácido láctico homo e heterofermentativas, pode determinar a capacidade das silagens em permanecerem estáveis durante o período de utilização. As bactérias do ácido láctico heterofermentativas utilizam os substratos disponíveis para o seu metabolismo, gerando como produto final ácido acético, láctico, etanol e CO₂ (SALMINEN; WRIGHT; OUWEHAND, 2004). Dentre essas bactérias, *Lactobacillus buchneri* é uma espécie de bactéria do ácido láctico heterofermentativa presente naturalmente nas silagens que

tem sido utilizada como inoculante devido sua capacidade de converter o ácido láctico em acético e 1,2-propanodiol, sendo que esse último composto pode ser utilizado pela *Lactobacillus diolivorans* formando propionato (KROONEMAN et al., 2002; KUNG JR. et al., 2018). Os ácidos fracos, como acético e propiônico, podem reduzir o crescimento de leveduras tolerantes ao ácido (MOON, 1983). Esses ácidos possuem a capacidade de ultrapassar a membrana das leveduras em sua forma não dissociada, e quando no meio intracelular se dissociam liberando o H⁺ e conseqüentemente alterando o pH interno dos microorganismos (LAMBERT; STRETFORD, 1999). Como forma de manter o pH interno em condições adequadas, os microorganismos realizam uma série de reações visando remover H⁺, reações essas que demandam energia e conseqüentemente reduzem o seu crescimento (LAMBERT; STRETFORD, 1999).

Os resultados do perfil fermentativo das silagens compostas por coprodutos úmidos e alimentos com elevado teor de MS sugerem que *Lactobacillus buchneri* é um dos principais microorganismos presentes nesse tipo de silagem (NISHINO; HARADA; SAKAGUSHI, 2003; WANG; NISHINO, 2009). Através da utilização de técnicas moleculares para avaliação dos microorganismos presentes em silagens de dieta completa contendo coprodutos úmidos, foi identificado a presença de *Lactobacillus buchneri* independente do tempo e da condição de armazenamento, porém sua atividade e quantificação não foram determinados (WANG; NISHINO, 2013). Apesar disso, o aumento da atividade ou população de *Lactobacillus buchneri* em silagens compostas por coprodutos úmidos ensilados juntamente com outros ingredientes dietéticos pode resultar em silagens com maior concentração de acetato e estabilidade aeróbica.

Anderson et al. (2009) não detectaram ácido acético nas silagens compostas apenas por GDU, enquanto que as silagens de GDU e casquinha de soja apresentaram concentração de acetato de 0,82% da MS para a proporção 85:15 e 0,94% da MS para a proporção 70:30 (GDU:casquinha de soja). De forma similar, a ensilagem de dieta completa contendo 8% FGMU e 9% de GDS na MS por 11, 44, 88 e 140 dias resultou em menor pH, crescimento de leveduras e temperatura máxima durante 7 dias de exposição ao ar em relação a dieta não ensilada, com queda linear na contagem de leveduras com o aumento do tempo de armazenamento (WEINBERG et al., 2011).

Além disso, silagens que apresentam maior concentração de carboidratos solúveis em água e lactato após a abertura do silo tem sido associadas com menor estabilidade aeróbica (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Mjoun et al. (2011) observaram concentração de carboidratos solúveis em água de 8,2 g/kg de MS para silagem de milho, 4,3 g/kg de MS para a silagem composta de 75% de milho planta inteira e 25% de GDU, 4,2 g/kg de MS para a silagem 50% milho planta inteira e 50% GDU e 2,3 g/kg de MS para a silagem composta apenas por GDU após 129 dias de armazenamento. Nesse mesmo estudo, maior estabilidade aeróbica foi observada para as silagens com GDU em comparação a silagem de milho.

Outro fator predisponente para a redução da estabilidade aeróbica é a alta população de leveduras nas silagens após a abertura do silo. Aparentemente, população de leveduras acima de 10^5 ufc/g em silagens pode reduzir a capacidade desse material em se manter estável em contato com o ar (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; RANJIT; KUNG JR., 2000; WOOLFORD, 1984). A presença e atuação de fungos e leveduras pode ser um dos principais contribuidores para a perda da estabilidade aeróbica de silagens, porém a deterioração das silagens é afetada por diversos fatores que se estendem do manejo da lavoura ao período de utilização (WILKINSON; DAVIS, 2012).

A incorporação de silagens com maior estabilidade aeróbica pode reduzir a deterioração das dietas (TAYLOR et al., 2002). Porém, o fornecimento de dietas com maior estabilidade aeróbica não tem sido associado com aumento no CMS e produção de leite de vacas em lactação (ARRIOLA et al., 2021), apesar do aumento da deterioração dos alimentos estar associado com seu aquecimento (WILKINSON; DAVIS, 2012). Nesse sentido, é importante salientar que na maioria das vezes a avaliação da estabilidade aeróbica das silagens e dietas nos estudos tem sido realizada por um longo período de tempo em condições ambientais controladas (NISHINO; HARADA; SAKAGUSHI, 2003; WANG; NISHINO, 2013). Sendo que esse tipo de abordagem não reflete as reais condições das dietas fornecidas aos animais nas fazendas, que permanecem por cerca de 24 horas no cocho, com variação na temperatura e umidade do ambiente ao longo do dia.

A alta população de leveduras e concentração de carboidratos solúveis em água na silagem pode favorecer a deterioração aeróbica durante o período de utilização. Porém, em silagens de coprodutos úmidos com aditivos biológicos a população de leveduras e a concentração de carboidratos solúveis em água não

parecem ser os principais fatores responsáveis pela perda da estabilidade. O aumento da estabilidade aeróbica para as silagens compostas por mais alimentos em relação a ensilagem apenas dos coprodutos úmidos pode ser justificada pelo pH baixo e pela baixa concentração de carboidratos solúveis presentes antes da ensilagem. Esses fatores são capazes de reduzir o crescimento e a atuação de bactérias do ácido láctico heterofermentativas e conseqüentemente a produção de acetato e propionato. A grande disponibilidade de coprodutos úmidos permite a obtenção de variadas combinações entre eles, sendo que essas combinações alteram a disponibilidade de substratos para os microorganismos envolvidos no processo fermentativo. Além disso, o tempo de armazenamento pode ter impacto direto sobre a estabilidade da silagem quando exposta ao ar, com aumento da estabilidade com o avançar do período de estocagem.

3. REFERÊNCIAS

ALLEN, D. M.; GRANT, R. J. Interactions between forage and wet corn gluten feed as sources of fiber in diets for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 2, p. 322-331, 2000.

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, 2000.

ANDERSON, J. L. et al. Ensiling characteristics of wet distillers grains mixed with soybean hulls and evaluation of the feeding value for growing Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 6, p. 2113-2123, 2009.

ARMENTANO, L.; PEREIRA, M. N. Measuring the effectiveness of fiber by animal response trials. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1416-1425, 1997.

ARRIOLA APELO, S. I.; KNAPP, J. R.; HANIGAN, M. D. Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4000-4017, 2014.

ASADI ALAMOUTI, A. et al. Effects of inclusion of neutral detergent soluble fibre sources in diets varying in forage particle size on feed intake, digestive processes, and performance of mid-lactation Holstein cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 154, n. 1-2, p. 9-23, 2009.

BAUMGARD, L. H. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, n. 1, p. R179-R184, 2000.

BAUMGARD, L. H. et al. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2155-2163, 2002.

BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z. Effects of physically effective fiber on intake, chewing activity, and ruminal acidosis for dairy cows fed diets based on corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 6, p. 2117-2129, 2005.

BEHGAR, M. et al. The impact of alfalfa hay particle size on the utilization of soy hull by early lactating dairy cows. **Livestock Science**, v. 142, n. 1-3, p. 147-154, 2011.

BELYEA, R. L. et al. Sources of variation in composition of DDGS. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, n. 3-4, p. 122-130, 2010.

BELYEA, R. L.; RAUSCH, K. D.; TUMBLESON, M. E. Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol processing. **Bioresource Technology**, v. 94, n. 3, p. 293-298, 2004.

BENCHAAR, C. et al. Effects of increasing amounts of corn dried distillers grains with solubles in dairy cow diets on methane production, ruminal fermentation, digestion, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 4, p. 2413-2427, 2013.

BHANDARI, S. K. et al. Effects of chop length of alfalfa and corn silage on milk production and rumen fermentation of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 5, p. 2355-2366, 2007.

BODDUGARI, K. et al. Maximal replacement of forage and concentrate with a new wet corn milling product for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 4, p. 873-884, 2001.

BRODERICK, G. A.; MERTENS, D. R.; SIMONS, R. Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 7, p. 1767-1776, 2002.

CASPERSON, B. A. et al. Inclusion of calcium hydroxide-treated corn stover as a partial forage replacement in diets for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 3, p. 2027-2036, 2018.

COPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos. Décimo segundo levantamento, setembro, 2020. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> >. Acesso em: 26 de setembro de 2020.

COOK, D. E. et al. The effects on digestibility and ruminal measures of chemically treated corn stover as a partial replacement for grain in dairy diets. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6342-6351, 2016.

DARABIGHANE, B. et al. Effects of inclusion of corn gluten feed in dairy rations on dry matter intake, milk yield, milk components, and ruminal fermentation parameters: a meta-analysis. **Tropical Animal Health and Production**, p. 1-11, 2020.

DONNELLY, D. M. et al. A comparison of alkali treatment methods to improve neutral detergent fiber digestibility of corn stover. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9058-9064, 2018.

EINARSON, M. S.; PLAIZIER, J. C.; WITTENBERG, K. M. Effects of barley silage chop length on productivity and rumen conditions of lactating dairy cows fed a total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 9, p. 2987-2996, 2004.

ELIYAHU, D. et al. Composition, preservation and digestibility by sheep of wet by-products from the food industry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 207, p. 1-9, 2015.

ERICKSON, G. E. et al. Storage of wet corn co-products. **Faculty Papers and Publications in Animal Science**, p. 506, 2008.

ESMAIELI, M. et al. Variation of TMR particle size and physical characteristics in commercial Iranian Holstein dairies and effects on eating behaviour, chewing activity, and milk production. **Livestock Science**, v. 191, p. 22-28, 2016.

FERLAY, A. et al. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. **Biochimie**, v. 141, p. 107-120, 2017.

FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L.; PALMQUIST, D. L. Replacement of corn silage with corn gluten feed and sodium bicarbonate for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 6, p. 1944-1952, 1991.

FIRKINS, J. L. Effects of feeding nonforage fiber sources on site of fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1426-1437, 1997.

FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA – FUNDECITRUS. Inventário de árvores e estimativa da safra de laranja no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste mineiro—retrato dos pomares em março/2021. Araraquara, São Paulo, 2021.

GARCIA, A. D.; KALSCHEUR, K. F. **Ensiling wet distillers grains with other feeds**. SDSU Extension Extra 4029. 2004.

GRANT, R. H.; MERTENS, D. R. Influence of buffer pH and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 10, p. 2762-2768, 1992.

GRANT, R. J. Interactions among forages and nonforage fiber sources. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1438-1446, 1997.

- GUNDERSON, S. L. et al. Nutritional value of wet corn gluten feed for sheep and lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 5, p. 1204-1210, 1988.
- HALL, M. B. et al. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 15, p. 2079-2086, 1999.
- HALL, M. B.; HEREJK, C. Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 11, p. 2486-2493, 2001.
- HALL, M. B.; LARSON, C. C.; WILCOX, C. J. Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 1, p. 311-322, 2010.
- HAO, X. Y. et al. Replacing alfalfa hay with dry corn gluten feed and Chinese wild rye grass: Effects on rumen fermentation, rumen microbial protein synthesis, and lactation performance in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 2672-2681, 2017.
- JACKSON, M. G. The alkali treatment of straws. **Animal Feed Science and Technology**, v. 2, n. 2, p. 105-130, 1977.
- JAMI, E. et al. Effects of including NaOH-treated corn straw as a substitute for wheat hay in the ration of lactating cows on performance, digestibility, and rumen microbial profile. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1623-1633, 2014.
- JANICEK, B. N. et al. The effect of feeding dried distillers grains plus solubles on milk production and excretion of urinary purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3544-3553, 2008.
- KELZER, J. M. et al. Effects of feeding three types of corn-milling coproducts on milk production and ruminal fermentation of lactating Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 5120-5132, 2009.
- KELZER, J. M. et al. Evaluation of protein fractionation and ruminal and intestinal digestibility of corn milling co-products. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 6, p. 2803-2815, 2010.
- KONONOFF, P. J.; HEINRICHS, A. J.; LEHMAN, H. A. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 10, p. 3343-3353, 2003.
- KONONOFF, P. J.; HEINRICHS, A. J. The effect of corn silage particle size and cottonseed hulls on cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 7, p. 2438-2451, 2003.
- KROONEMAN, J. et al. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1, 2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 639-646, 2002.

KUNG JR, L. et al. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4020-4033, 2018.

LAMBERT, R. J.; STRATFORD, M. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. **Journal of Applied Microbiology**, v. 86, n. 1, p. 157-164, 1999.

LAMMERS, B. P.; BUCKMASTER, D. R.; HEINRICHS, A. J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 5, p. 922-928, 1996.

LASCANO, G. J.; HEINRICHS, A. J. Effects of feeding different levels of dietary fiber through the addition of corn stover on nutrient utilization of dairy heifers precision-fed high and low concentrate diets. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 6, p. 3025-3036, 2011.

LASHKARI, S.; TAGHIZADEH, A. Nutrient digestibility and evaluation of protein and carbohydrate fractionation of citrus by-products. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. 4, p. 701-709, 2012.

LEIVA, E.; HALL, M. B.; VAN HORN, H. H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2866-2875, 2000.

LI, C.; BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Feeding diets varying in forage proportion and particle length to lactating dairy cows: I. Effects on ruminal pH and fermentation, microbial protein synthesis, digestibility, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 5, p. 4340-4354, 2020.

LOBOS, N. E.; WATTIAUX, M. A.; BRODERICK, G. A. Effect of rumen-protected lysine supplementation of diets based on corn protein fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 6620-6632, 2021.

LOY, D. D.; LUNDY, E. L. Nutritional properties and feeding value of corn and its coproducts. In: **Corn**. AACC International Press, 2019. p. 633-659.

MAX, B. et al. Biotechnological production of citric acid. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 862-875, 2010.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ED. Aberystwyth, Ed. Chalcombe publications, 1991.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1463-1481, 1997.

Mertens, D. R. Regulation of forage intake. In: Fahey, G. C.; Collins Jr, M.; Mertens, D. R. **Forage Quality, Evaluation, and Utilization**, and L. E. Moser, 1994.

Madison, WI: ed., American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, p. 450– 493.

MJOUN, K. et al. Ruminant degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in soybean and corn distillers grains products. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 9, p. 4144-4154, 2010.

MJOUN, K.; KALSCHEUR, K. F.; GARCIA, A. D. Fermentation characteristics and aerobic stability of wet corn distillers grains with solubles ensiled in combination with whole plant corn. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 7, p. 1336-1340, 2011.

MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 55, n. 3, p. 453-460, 1983.

MORES, S. et al. Citric acid bioproduction and downstream processing: Status, opportunities, and challenges. **Bioresource Technology**, p. 124426, 2020.

MOULD, F. L.; ØRSKOV, E. R. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 1983.

MUCK, R. E.; O'KIELY, P. Aerobic deterioration of lucerne (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mais*) silages—effects of fermentation products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 59, n. 2, p. 145-149, 1992.

MULLINS, C. R. et al. Effects of feeding increasing levels of wet corn gluten feed on production and ruminal fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 11, p. 5329-5337, 2010.

MULROONEY, C. N. et al. Canola meal replacing distillers grains with solubles for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 11, p. 5669-5676, 2009.

NASROLLAHI, S. M.; IMANI, M.; ZEBELI, Q. A meta-analysis and meta-regression of the effect of forage particle size, level, source, and preservation method on feed intake, nutrient digestibility, and performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 12, p. 8926-8939, 2015.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. **Nutrient requirements of dairy cattle: 2001**. 17th revised edition. National Academies Press, 2001.

NI, K. et al. Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 706-715, 2017.

NISHINO, N.; HARADA, H.; SAKAGUCHI, E.. Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers' grains ensiled alone or in combination with various

feeds as a total mixed ration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 6, p. 557-563, 2003.

O'KIELY, P.; MUCK, R. E. Aerobic deterioration of lucerne (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mais*) silages—effects of yeasts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 59, n. 2, p. 139-144, 1992.

PAHLOW, G. et al. Microbiology of ensiling. **Silage Science and Technology**, v. 42, p. 31-93, 2003.

PAN, C. et al. Effect of adding Chinese wildrye or alfalfa to wet corn gluten feed during fermentation. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 16, n. 2, 2014.

PAPAGIANNI, M. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 3, p. 244-263, 2007.

PATERSON, J. A.; KLOPFENSTEIN, T. J.; BRITTON, R. A. Ammonia treatment of corn plant residues: digestibilities and growth rates. **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 6, p. 1592-1600, 1981.

PEREIRA, M. N.; ARMENTANO, L. E. Partial replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cow diets. II. Digestion and rumen function. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2876-2887, 2000.

PEREIRA, M. N. et al. Efeito do ambiente ruminal sobre a degradabilidade de colmos da cana-de-açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 511-518, 2015.

PEREIRA, M. N. et al. Partial replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cow diets. I. Performance and health. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 12, p. 2716-2730, 1999.

PETZEL, E. A. et al. What is the digestibility and caloric value of different botanical parts in corn residue to cattle?. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 7, p. 3056-3070, 2019.

RANATHUNGA, S. D. et al. Production of dairy cows fed distillers dried grains with solubles in low-and high-forage diets. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 12, p. 10886-10898, 2018.

RANJIT, N. K.; KUNG JR, L.. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 3, p. 526-535, 2000.

RAUSCH, K. D.; BELYEA, R. L. The future of coproducts from corn processing. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 128, n. 1, p. 47-86, 2006.

REZAC, D. J. et al. Effects of varying rates of tallgrass prairie hay and wet corn gluten feed on productivity of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 2, p. 842-849, 2012.

RUSSELL, J. B.; WILSON, David B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH?. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 8, p. 1503-1509, 1996.

SALMINEN, S.; WRIGHT, A.; OUWEHAND, A. **Lactic Acid Bacteria – Microbiological and Functional Aspects**. 3. ED. New York, Ed. Marcel Dekker inc., 2004.

SALVADOR, Sandro César. **Suplementação com milho e minerais orgânicos em dietas com alto teor de polpa cítrica para vacas em lactação**. 2006. 105 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

SALVADOR, S. C. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos I: Consumo e digestão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 682-690, 2008a.

SALVADOR, S. C. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos II: Desempenho e economia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1142-1149, 2008b.

SÁ NETO, A. et al. Exchanging physically effective neutral detergent fiber does not affect chewing activity and performance of late-lactation dairy cows fed corn and sugarcane silages. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 11, p. 7012-7020, 2014.

SCHROEDER, J. W. Optimizing the level of wet corn gluten feed in the diet of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 3, p. 844-851, 2003.

SHI, H. T. et al. Effects of replacing wild rye, corn silage, or corn grain with CaO-treated corn stover and dried distillers grains with solubles in lactating cow diets on performance, digestibility, and profitability. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 10, p. 7183-7193, 2015.

STALKER, L. A. et al. Corn residue stocking rate affects cattle performance but not subsequent grain yield. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 10, p. 4977-4983, 2015.

STAPLES, C. R. et al. Feeding value of wet corn gluten feed for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 6, p. 1214-1220, 1984.

STROHBEHN, D. R. et al. Evaluation of Bagging to Extend Storage Life of Wet and Modified Distillers Grains—A Demonstration Project. **Iowa State University Research and Demonstration Farms Progress Reports**, v. 2007, n. 1, 2008.

SULLIVAN, M. L.; GRIGSBY, K. N.; BRADFORD, B. J. Effects of wet corn gluten feed on ruminal pH and productivity of lactating dairy cattle fed diets with sufficient physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 5213-5220, 2012.

VANDENBERGHE, L. P. S. et al. Production and Application of Citric Acid. In: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. Radarweg: Elsevier, 2017. cap 25. p. 557-575.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Citrus: World Markets and Trade. Washington, D.C., 2021. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Feed Outlook: May 2020. Washington, D.C., 2020. Disponível em: < <https://www.ers.usda.gov/webdocs/outlooks/98451/fds-20e.pdf?v=6514.6> >. Acesso em: 26 de setembro de 2020.

WANG, C.; NISHINO, N. Effects of storage temperature and ensiling period on fermentation products, aerobic stability and microbial communities of total mixed ration silage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 6, p. 1687-1695, 2013.

WANG, F.; NISHINO, N. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewers grains preserved as a silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 149, n. 3-4, p. 265-274, 2009.

WANG, F.; NISHINO, N. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: Effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 1, p. 133-140, 2008.

WATSON, A. K. et al. Forages and pastures symposium: Optimizing the use of fibrous residues in beef and dairy diets. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 6, p. 2616-2625, 2015.

WEIDNER, S. J.; GRANT, R. J. Altered ruminal mat consistency by high percentages of soybean hulls fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 2, p. 522-532, 1994.

WEINBERG, Z. G. et al. Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film—A commercial scale experiment. **Animal Feed Science and Technology**, v. 164, n. 1-2, p. 125-129, 2011.

WEISS, W. P. Effects of feeding diets composed of corn silage and a corn milling product with and without supplemental lysine and methionine to dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2075-2084, 2019.

WEI, Z. et al. Lactation performance and rumen fermentation in dairy cows fed a diet with alfalfa hay replaced by corn stover and supplemented with molasses. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 8, p. 1122, 2019.

WEI, Z.; ZHANG, B.; LIU, J. Effects of the dietary nonfiber carbohydrate content on lactation performance, rumen fermentation, and nitrogen utilization in mid-lactation dairy cows receiving corn stover. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2018.

WHITE, R. R. et al. Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. I: Deriving equations that identify factors that influence effectiveness of fiber. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9551-9568, 2017a.

WHITE, R. R. et al. Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. II: Development of feeding recommendations. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9569-9584, 2017b.

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, 2012.

WOOLFORD, M. K. **The silage fermentation**. 1. ED. New York, Ed. Marcel Dekker inc., 1984.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Effects of physically effective fiber on digestion and milk production by dairy cows fed diets based on corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 3, p. 1090-1098, 2005.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Physically effective fiber: Method of determination and effects on chewing, ruminal acidosis, and digestion by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2618-2633, 2006.

YODER, P. S. et al. Effects of jugular infused methionine, lysine, and histidine as a group or leucine and isoleucine as a group on production and metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 3, p. 2387-2404, 2020.

YODER, P. S. et al. Effects of varying extracellular amino acid profile on intracellular free amino acid concentrations and cell signaling in primary mammary epithelial cells. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 10, p. 8977-8985, 2019.

ZEBELI, Q. et al. A model to optimise the requirements of lactating dairy cows for physically effective neutral detergent fibre. **Archives of Animal Nutrition**, v. 64, n. 4, p. 265-278, 2010.

ZEBELI, Q. et al. Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 2, p. 651-668, 2006.

ZEBELI, Q. et al. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1041-1056, 2012.

ZEBELI, Q. et al. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 5, p. 2046-2066, 2008.

ZHANG, G. N. et al. Effect of substituting wet corn gluten feed and corn stover for alfalfa hay in total mixed ration silage on lactation performance in dairy cows. **Animal**, v. 15, n. 3, p. 100013, 2021.

ZHANG, G. N. et al. Silage Fermentation, Bacterial Community, and Aerobic Stability of Total Mixed Ration Containing Wet Corn Gluten Feed and Corn Stover Prepared with Different Additives. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1775, 2020.

ZHU, W. et al. Effects of dietary forage sources on rumen microbial protein synthesis and milk performance in early lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 3, p. 1727-1734, 2013.

1 CAPÍTULO 2 – ARTIGO

2 **Fibrous coproducts of corn and citrus**
3 **as forage and concentrate for dairy cows**4 **ABSTRACT**

5 The objective of this experiment was to evaluate four strategies of feeding fibrous
6 coproducts to lactating dairy cows. Twenty Holstein cows (180 ± 51 days in lactation,
7 8 primiparous) in five 4×4 Latin squares (21-day periods) were fed a combination of
8 two feeding strategies in a 2×2 factorial arrangement of treatments. Strategies were:
9 1) Concentrate feeds: the partial replacement of wet corn gluten feed (GF) by an iso-
10 N blend of pelleted citrus pulp plus corn distillers dried grains (CD). 2) Forage feeds:
11 the partial replacement of whole plant corn silage (CS) dry matter (DM) by corn ear
12 fibrous coproduct (CO) DM. The goal was to have diets with 20 and 5% of DM of both
13 GF and CO and to have a 50% replacement of CS by CO. The calculated concentration
14 of physically effective neutral detergent fiber ($peNDF_{>8}$) was reduced from 21.8% of DM
15 on CS to 19.2% of DM on CO and $peNDF_{>8}$ was 20.7% of DM on GF and 20.2% of DM
16 on CD. Dietary starch ranged from 21.0 to 23.5% of DM. Statistical significance was
17 declared at $P \leq 0.05$ and trends at $0.05 < P \leq 0.10$. The CS-CD diet had the highest
18 yields of 4% fat corrected (28.5 kg/d) and energy corrected (30.0 kg/d) milk relative to
19 the other diets (27.0 and 28.4 kg/d, respectively). Milk fat content was reduced on CO
20 relative to CS. Cows fed the CO diets had higher DM intake (DMI) (21.2 vs. 20.2 kg/d)
21 and lower feed efficiency than CS. Diets CO reduced the intake of $peNDF_{>8}$ (kg/d) and
22 the intake of $peNDF_{>8}$, forage NDF, and total NDF as % of body weight relative to CS.
23 Diets CO reduced the mean meal duration, the duration of the largest daily meal, and
24 rumination and eating behaviors (min/d and min/kg of DMI). The total tract starch
25 digestibility was lower on CO than CS but the intake of digestible starch was higher on
26 CO than CS. Diet CO-GF had the lowest NDF digestibility. The GF reduced milk yield
27 (29.6 vs. 30.8 kg/d), tended to reduce DMI (20.4 vs. 21.0 kg/d), and reduced the intake
28 of digestible organic matter relative to CD. The type of concentrate did not affect the
29 intake of $peNDF_{>8}$ and feed efficiency. Meal frequency and mean meal duration were
30 increased and the duration and size of the largest daily meal were reduced by GF. The
31 GF increased rumination (min/d, min/kg of DMI, and min/kg of $peNDF_{>8}$). The intake of

32 digestible starch tended to be increased by GF. Rumen microbial yield did not differ.
33 The CO total mixed ration had lower temperature on-farm than CS. The regulation of
34 feed intake by long NDF in this theoretically low forage diet was dictated by the change
35 in roughage source. The intake of digestible starch was apparently involved on intake
36 regulation and chewing behavior when the nature of concentrates was altered, at
37 constant roughage in the diet. All nutritional strategies evaluated were nutritionally
38 viable, although there was a trend for income over cost to be higher on CS than CO
39 and type of concentrate had no effect on return per cow.

40 **Keywords:** coproducts; corn; forage; effective fiber; feeding behavior.

41

INTRODUCTION

42 The corn and citrus industries generate expressive amounts of coproducts from
43 their use for human food or ethanol production. The feeding of dairy cows with fibrous
44 coproducts from corn and citrus are effective ways of exploring the fiber digesting
45 capacity of ruminants. Fibrous coproducts may be viable options for the supply of
46 forages or concentrates in the diet of lactating dairy cows (Armentano and Pereira,
47 1997). However, such feedstuffs differ greatly on the content and nature of protein and
48 carbohydrates (Van Soest, 2018). The interchangeability among fibrous coproducts
49 dictated by their relative nutritive value and price is a way to maximize profit per cow,
50 but the feeding strategy adopted can negatively affect feed dry matter (**DM**) intake
51 (**DMI**), diet digestibility, and lactation performance.

52 Fiber-rich cereal kernel coproducts with small particle size increase milk fat
53 content less than neutral detergent fiber (**NDF**) from alfalfa silage when replacing
54 starch in low forage diets, but have no stimulatory effect on rumination (Pereira et al.,
55 1999). The NDF in the pericarp of cereals, such as corn, wheat, and barley, have total
56 tract digestibility similar to forage NDF, but do not increase the ruminal acetate to
57 propionate ratio as forage NDF (Pereira and Armentano, 2000). Citrus pulp is rich in
58 highly digestible NDF, pectin, and sucrose (Miron et al., 2002) and may reduce rumen
59 microbial yield (Dusková and Marounek, 2001; Hall and Herejk, 2001) and feed intake
60 (Leiva et al., 2000; Broderick et al., 2002; Salvador et al., 2008) relative to starchy
61 grain. The replacement of forages, corn grain, and protein concentrates by corn gluten
62 feed (**CGF**) increased lactation performance and intake in a recent meta-analysis
63 (Darabighane et al., 2020), although the response lacks consistency as the result of
64 variation in the content of the coproduct in the diet and type of forage in the basal diet
65 (Gunderson et al., 1988; Allen and Grant, 2000; Sullivan et al., 2012). The replacement
66 of a high fiber coproduct by another coproduct is usually not the object of research
67 evaluation.

68 Coproducts from the vegetative fraction of mature corn may be viable sources
69 of physically effective NDF (**peNDF**) in replacement to traditional forages, potentially
70 increasing milk yield per unit of forage produced in the farm or the efficiency of corn
71 production for grain or ethanol. The complete replacement of alfalfa haylage with alkali
72 treated corn stover reduced DMI, but did not affect the yields of milk and components
73 (Casperson et al., 2018). Jami et al. (2014) observed an improvement in the

74 concentration in milk of fat and protein and in the yield of energy corrected milk (**ECM**)
75 of cows fed corn stover in replacement to wheat hay, even at reduced DMI, suggesting
76 a favorable action of corn stover on nutrient usage and feed efficiency. However, the
77 low digestibility of the NDF in the vegetative fraction of cereal coproducts is a frequent
78 concern when feeding high producing dairy cows (Paterson et al., 1981; Zhang et al.,
79 2021). Petzel et al. (2019) observed that the total tract digestibility of corn leaves and
80 husks were higher than the digestibility of stalks. In other studies, corn husks had
81 higher in vitro digestibility than leaves and stalks (Stalker et al., 2015; Watson et al.,
82 2015). There is possibility of increasing the nutritive value of corn stover coproducts by
83 reducing the proportion of stalks. A novel corn ear fibrous coproduct (WF Comidão.
84 Cargill Agrícola SA, Uberlândia, Brazil) has been developed by anaerobic storage of
85 husks, cobs, wet CGF, and residual kernels from corn cultivated for seed production
86 combined with high protein *Aspergillus niger* biomass and steep liquor. There is no
87 literature evaluating the replacement of forage by WF Comidão in the diet of dairy
88 cows.

89 The objective of this experiment was to evaluate four strategies of feeding
90 fibrous coproducts to lactating dairy cows. Diets were formulated by the combination
91 of two feeding strategies in a 2 x 2 factorial arrangement of treatments. Strategies
92 were: 1) Concentrate feeds: the partial replacement of wet CGF by an iso-N blend of
93 pelleted citrus pulp plus corn distillers dried grains (**DDG**). 2) Forage feeds: the partial
94 replacement of whole plant corn silage DM by WF Comidão DM. The goal was to
95 evaluate diets with 20 and 5% of DM of both CGF and WF Comidão and to have a
96 50% replacement of corn silage by WF Comidão, at similar concentrations in the diet
97 of crude protein (**CP**), ensiled corn grain, whole cottonseeds, and soybean meal.

98 **MATERIALS AND METHODS**

99 Experimental procedures were approved by the University of Lavras Bioethic
100 Committee in Utilization of Animals (Protocol number 070/19).

101 ***Cows and treatments***

102 The experiment was conducted from December, 2019 to March, 2020, during
103 the hot-rainy season of Southeast Brazil. Twenty Holstein cows (180 ± 51 DIM, 8
104 primiparous) were individually fed in an open-walled, sand-bedded tie stall barn with

105 fans and high-pressure sprinklers and milked 3 x/d starting at 0500, 1300, and 2000
106 h in an adjacent herringbone parlor. Cows formed 5 groups of 4 animals based on
107 parity and milk yield (squares). Within a square, cows were randomly allocated to a
108 sequence of 4 treatments in 4 x 4 Latin squares, with 21-d periods, 14 d of adaptation
109 to treatments, and balanced for carryover effects. Treatments were a 2 x 2 factorial
110 arrangement of dietary forage source and concentrate source (Table 4). Forage
111 sources were substituted on an iso-DM basis: whole plant corn silage (**CS**) vs. WF
112 Comidão (**CO**). Concentrate sources were substituted on an iso-N basis: wet CGF (**GF**;
113 GoldenMill. Cargill Agrícola SA, Castro, Brazil) vs. pelleted citrus pulp plus DDG with
114 yeast fermentation coproduct (**CD**; FlexyPro, SJC Bioenergia, Quirinópolis, Brazil).
115 Limestone was used on diets GF to adjust for the Ca concentration in citrus pulp. The
116 concentrations of ensiled corn grain and whole cottonseeds were kept constant in all
117 diets. The total mixed ration (**TMR**) was mixed once per day in a stationary vertical
118 mixer and cows were fed at 0700 h. The daily feed refusal per cow on an as-fed basis
119 was 18.4 ± 7.1 % of offered (mean \pm SD). Samples of whole plant corn silage, WF
120 Comidão, CGF, and ensiled corn grain were collected weekly for DM determination
121 with a microwave oven and the TMR was adjusted accordingly.

122 ***Sample collection and analysis***

123 Daily samples of feed ingredients and orts per cow were collected from day 15
124 to 21 of each period and composite samples were formed per period. Samples were
125 dried in a forced-air oven at 55°C for 72 h and ground to pass a 1-mm diameter mesh
126 screen (Wiley mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ). The DM concentration was
127 determined at 105°C for 24 h and ash was evaluated at 550°C for 8 h. Samples of feed
128 ingredients were sent to a commercial laboratory (3rLab/Rock River Laboratories.
129 Lavras, Brazil) for determination of CP, NDF by filter bag technique with heat-stable α -
130 amylase (ANKOM Technology, Macedon, USA), ether extract, and starch plus free
131 glucose (Hall, 2009). Data from feed analyses were used to calculate the
132 concentrations of NFC [NFC = 100 – (CP + NDF + ether extract + ash)] and residual
133 OM (**ROM** = NFC – starch) in feeds and diets.

134 The mean milk yield and DMI of days 15 to 21 were used to compare treatments.
135 On days 17 to 21, milk samples were obtained in proportion to the yield on each milking
136 and a daily composite was formed and analyzed per cow. Samples were stored in

137 flasks containing 2-bromo-2-nitropropane-1-3 diol under refrigeration until shipment to
138 a commercial laboratory (Laboratory of the Paraná State Holstein Breeders
139 Association, Curitiba, Brazil). Milk crude protein, fat, lactose, total solids, somatic cell
140 count (**SCC**), and milk urea-N (**MUN**) were analyzed by mid-infrared analysis (Bentley
141 Instruments Inc., Chaska, USA). Milk energy secretion (Mcal/d) was calculated (NRC,
142 2001): $[(0.0929 \times \% \text{ fat}) + (0.0547 \times \% \text{ protein}) + (0.0395 \times \% \text{ lactose})] \times \text{kg of milk}$.
143 The secretion of ECM (kg/d) was calculated as: Milk energy secretion/0.70 (assumes
144 0.70 Mcal/kg of milk with 3.7% fat, 3.2% protein, and 4.6% lactose). The 4% FCM
145 (kg/d) was calculated with the Gaines equation (NRC, 2001): $0.4 \times \text{kg of milk} + 15 \times$
146 kg of fat . The feed efficiencies were calculated as milk yield/DMI, 4% FCM/DMI, and
147 ECM/DMI. The efficiency of N utilization (**NUE**) was calculated as milk N secretion (milk
148 crude protein/6.38) as a proportion of N intake. Body weight was measured on days
149 20 and 21 immediately after the morning milking and BCS (1 to 5; Wildman et al., 1982)
150 was the mean of three independent evaluators on day 21.

151 On days 19 to 21, the fecal and urinary excretions were evaluated in three 8-h
152 collection periods, with 8-h intervals, and starting 8 h late on each day, to represent a
153 24-h collection. Feces and urine were collected in buckets simultaneously to excretion.
154 Fecal samples were immediately weighed and sub-samples (1% of defecation) were
155 frozen throughout the collection period. A composite fecal sample was formed per cow
156 per period and was dried at 55°C for 72 h. The concentrations of DM, NDF, ash, and
157 starch plus free glucose were measured as previously described. The total tract
158 apparent digestibilities of DM, OM, NDF, starch plus free glucose, and the non-NDF
159 OM were calculated. Digestible OM intake (**DOMI**) was estimated and the ECM/DOMI
160 ratio was calculated as a measure of digestible energy efficiency. Urine composite
161 samples were formed (3% of urination) and kept under refrigerator throughout the
162 collection period. Period composites from each cow were mixed with 4% sulfuric acid
163 solution (1:5) and frozen for allantoin determination. Allantoin was analyzed according
164 to Chen and Gomes (1992). The efficiency of rumen microbial growth was estimated
165 as allantoin/DOMI (mmol/kg).

166 Blood samples were collected from the coccygeal vessels at 0 and 2 h relative
167 to the first feeding after the morning and afternoon milkings on day 18. Samples were
168 collected in tubes with EDTA and were centrifuged at $2,000 \times g$ for 10 min at room

169 temperature. Plasma was obtained and frozen at -20°C for urea-N determination
170 (**PUN**) with a commercial kit (Urea Enzimática, Bioclin, Belo Horizonte, Brazil).

171 During days 15 to 17, rumination and eating behaviors were monitored by visual
172 observation at 5-min intervals continuously for 24 h. Buccal activities were: rumination,
173 ingestion, drinking, and idleness. A meal was defined by at least two consecutive 5-
174 min ingestion events following at least 10 min of idleness or rumination. To generate
175 the meal pattern data, the minimum 10-min intermeal interval was adopted based on
176 the reasoning of Mullins et al. (2012) for a 12-min interval. Meal duration was the ratio
177 between ingestion time (min/d) and meals/d. Meal size was the ratio between daily
178 DMI (kg/d) and meals/d. The duration and moment post-feeding of the longest daily
179 meal was calculated. The duration of the first daily meal was measured with a
180 chronometer. Five evaluators observed the behavior of all cows after offering feed at
181 0700 h until the last cow finished its first meal.

182 Particle size sorting behavior in periods of the day was evaluated on days 15 to
183 17 with the Penn State particle separator (**PSPS**) with the 19- and 8-mm diameter
184 screens and pan (Lammers et al., 1996). The particle distribution of the offered TMR
185 and available orts of each cow was measured at 0700 h (at feeding), 1200 h, 1900 h,
186 and 0700 h. The predicted intake (as-fed basis) of particles on each screen was: %
187 TMR retained on screen \times kg of TMR consumed. The observed intake of particles was:
188 % TMR retained on screen \times kg of TMR offered - % orts retained on screen \times kg of
189 orts. The selection index was: $100 \times (\text{observed intake}/\text{predicted intake})$. Sorting values
190 below 100% represent selective refusal, above 100% represent preferential intake, and
191 equal to 100% represent no selection. A mean value was generated per cow per
192 period. The proportion of daily intake in the morning (0700 to 1200 h), afternoon (1200
193 to 1900 h), and night (1900 to 0700 h) were determined.

194 The particle size distributions of corn silage and WF Comidão were evaluated
195 as described for the TMR. Composite samples from each screen of the PSPS were
196 formed per period and the DM and NDF concentrations were analyzed. The
197 concentration in the diet of physically effective NDF ($\text{peNDF}_{>8}$) was calculated from
198 individual feed analysis and diet ingredient composition assuming that only whole plant
199 corn silage, WF Comidão, and whole cottonseeds contribute to NDF greater than 8
200 mm. The $\text{peNDF}_{>8}$ was also estimated as in Zebeli et al. (2012): Diet total NDF % \times %
201 of TMR DM $>$ 8 mm.

202 ***Aerobic stability and microbiology of feeds***

203 During the last 7 d of each period, samples of each TMR (2 kg) were obtained
204 daily immediately after mixing and placed in 20 L buckets with *data loggers* (Cryopak
205 iMini, Cryopak, Edson, USA). The buckets were placed on the floor of the feed alley in
206 front of the cows to obtain on-farm measurements of diet temperature for 24 h at 30-
207 min intervals. The aerobic stability was defined as the time in minutes for the TMR to
208 reach temperature 2°C higher than the environment temperature (Ranjit and Kung Jr.,
209 2000). The value and the moment of the highest daily temperature were recorded.
210 Mean temperature was calculated for the entire day. Environmental temperature at the
211 center of the barn was measured at 30-min intervals with a data logger at 2.5 m from
212 the floor (EasyLog-USB-2-LCD. Lascar Electronics, Salisbury, United Kingdom).

213 The internal and surface temperature of the TMR load offered to each cow were
214 measured on days 15 to 17 at 0700, 1200, and 1900 h. The TMR was pushed up 1 h
215 before the temperature measurements. The surface temperature was evaluated with
216 an infrared thermometer (88E. HighMed. São Paulo, Brazil) on three locations of the
217 TMR pile and the mean value was obtained. The internal temperature was measured
218 with a *data logger* (Cryopak iMini, Cryopak, Edson, USA) placed inside the TMR with
219 minimum disturbing of the pile. The internal temperature was measured for 2 min at 5-
220 s intervals and the mean value was calculated for each measurement. A mean value
221 for the three days of temperature evaluation was generated per hour of the day per
222 cow per period. Samples of the TMR available to each cow were collected and frozen
223 at 0700, 1200, 1900, and 0500 h for pH determination. After thawing, 20 g of TMR
224 samples were diluted in 180 mL of distilled water and thoroughly homogenized for 2
225 min. The pH of the extract was measured with a pH meter (Phmetro Digimed DM 20.
226 Digicrom Analítica, São Paulo, Brazil).

227 On days 17 and 18 of the last period of the experiment, TMR samples (2 kg)
228 were collected after mixing and placed in 2 buckets per treatment. The aerobic stability
229 was evaluated in the laboratory (room with controlled temperature for 48 h; $24.9 \pm$
230 1.17°C SD). Data loggers (Cryopak iMini, Cryopak, Edson, USA) recorded the TMR
231 temperature at 30-min intervals. The aerobic stability was defined as the time in
232 minutes for the temperature of the TMR to be 2°C higher than the room temperature
233 (Ranjit and Kung Jr., 2000). The value of the highest temperature was recorded in
234 periods 0-24 and 0-48 h. The moment of the highest temperature was evaluated in the

235 period 0-48 h. Mean temperatures were calculated for the periods 0-24, 24-48, and 0-
236 48 h.

237 The wet CGF and WF Comidão were stored outside in bales with approximately
238 1,000 kg and 855 kg, respectively. The bales were wrapped with layers of plastic and
239 the utilization of each bale lasted 7 d for wet CGF and 4 d for WF Comidão. Samples
240 of wet CGF were obtained on days 1, 4, and 7 of utilization and WF Comidão was
241 sampled on days 1 and 4 of utilization. Samples were immediately refrigerated and
242 transported to the laboratory within 3 h of sampling for microbiological analyses and
243 pH measurement. Sequential 10-fold dilutions (10^{-1} – 10^{-6}) with peptonized water and
244 aqueous extracts were prepared. Filamentous fungi and yeast growth were evaluated
245 in Dichloran Rose Bengal agar Chloramphenicol (Kasvi, São José dos Pinhais, Brazil)
246 incubated at 28°C for 168 h and for 72 h, respectively. For enumeration of spore
247 forming bacteria the aqueous extract was maintained at 90°C for 10 min, and further
248 decimal dilutions were evaluated in Plate Count Agar medium (HiMedia Laboratories,
249 Mubai, India). Plates were incubated at 30°C for 24 h. Counts of cfu were performed
250 by visual observation of each plate and data were \log_{10} transformed for analyses.

251 ***Economic evaluation***

252 An economic evaluation of the diets was performed assuming a milk value
253 (US\$/L. 5 to 1 ratio between Brazilian Real and US Dollar) calculated with a basal milk
254 price of 85% for the mean of Minas Gerais state from August 2020 to July 2021
255 (<https://cepea.esalq.usp.br/br/indicador/leite.aspx>), added of a constant premium for
256 bacterial count, partnership, milk temperature, and transportation (US\$ 0.038/L), and
257 premiums for volume of milk delivered per 100 cows/day and concentrations of protein,
258 fat, and SCC in milk (Laticínios Verde Campo, Lavras, Brazil). The daily milk income
259 per cow was calculated. The cost of diets (US\$/kg of DM) assumed the following values
260 for feed ingredients (as-fed basis): WF Comidão (46.3% DM) US\$ 0.146/kg, wet CGF
261 (51.1% DM) US\$ 0.164/kg, FlexyPro (89.4% DM) US\$ 0.529/kg, citrus pulp (88.2%
262 DM) US\$ 0.330/kg, soybean meal (88.1% DM) US\$ 0.474/kg, ensiled corn grain
263 (59.5% DM) US\$ 0.298/kg, whole cottonseeds (92.0% of DM) US\$ 0.460/kg, limestone
264 (100% DM) US\$ 0.060/kg, and premix (94.1% of DM) US\$ 1.057/kg. Two scenarios
265 were simulated with high and low corn silage prices (27.2% DM): US\$ 0.040/kg and
266 0.080/kg. Feed cost and income over feed cost (US\$/cow/d) were calculated.

267 **Statistical analysis**

268 Data were analyzed with the MIXED procedure of SAS (SAS University Edition,
269 Cary, NC). The Latin square model had the random effect of cow (1 to 20), the fixed
270 effects of period (1 to 4), forage (CS, CO), and concentrate (GF, CD), and the
271 interaction between forage (**F**) and concentrate (**C**). Degrees of freedom were
272 calculated using the Kenward-Roger option. For data obtained over time (PUN), the
273 fixed effect of time and the 2- and 3-way interactions between time, F, and C were
274 added to the previous model. The interaction between cow, period, F, and C was
275 defined as random.

276 The aerobic stability data were analyzed as repeated measures over time. The
277 model for the TMR temperature obtained in buckets placed in the barn during 7 d of
278 each period was analyzed with a model containing the random effect of bucket (1 to
279 112) and the fixed effect of forage (CS, CO), concentrate (GF, CD), and the interaction
280 between F × C. Bucket nested within the interaction of F and C was defined as random.
281 The effect of time of measurement and the 2- and 3- term interactions with F and C
282 were added to the model. The mean values per sampling time per cow per period of
283 internal and surface temperature measured for 3 d were analyzed with the Latin square
284 model, similarly to PUN.

285 The TMR temperature evaluated once in the laboratory used a model with the
286 fixed effects of F, C, and the interaction of F and C. Bucket nested within the interaction
287 of F and C was defined as random. The effect of time of measurement and the 2- and
288 3- term interactions with F and C were added to the model. The best covariance
289 structure was selected based on the lowest value for the Akaike's information criterion.
290 Statistical significance was declared at $P \leq 0.05$ and trends at $0.05 < P \leq 0.10$.
291 Treatment means were compared by pair-wise t-tests when a $P \leq 0.10$ was detected
292 for the interaction between F and C.

293 **RESULTS**

294 **Feed ingredients and diets**

295 The WF Comidão had higher concentrations of DM (46.3 vs. 27.2% of as-fed),
296 CP (15.8 vs. 8.6% of DM), and starch (27.2 vs. 21.1% of DM) and lower NDF (29.8 vs.
297 53.0% of DM) than whole plant corn silage (Table 1). Whole plant corn silage had

298 longer particle size than WF Comidão (Table 2). The composition of the PSPS fractions
299 of each feed had large variation. Long particles had lower DM concentration and higher
300 content of NDF than short particles for both roughages. The disparity in NDF
301 concentration between the top and the bottom fractions of the PSPS was 24.6%-units
302 for corn silage and 20.8%-units for WF Comidão, the proportion of reduction in NDF
303 content from the top screen to pan was 38% and 56%, respectively. Citrus pulp had
304 higher concentrations of NFC (64.6 vs. 29.9% of DM) and ROM (57.3 vs. 19.1% of
305 DM) than CGF (Table 1). The pH, spore forming bacteria, and filamentous fungi of WF
306 Comidão was higher and yeast count was lower than wet CGF (Table 3).

307 Experimental diets are in Table 4. Diets GF had lower DM concentration than
308 diets CD (44.4 vs. 48.4% of as-fed) and diets CO had higher DM concentration than
309 diets CS (48.5 vs. 44.3% of as-fed) (mean of the 2 diets on each strategy). Diets CO
310 had lower concentrations of forage NDF (**FNDF**, 16.9% vs. 19.7% of DM) and total
311 NDF (31.3 vs. 34.1% of DM) and slightly higher starch (22.8 vs. 21.6% of DM), ROM
312 (17.1 vs. 15.4% of DM), and NFC (39.9 vs. 37.0% of DM) than diets CS. Diets CD had
313 lower NDF (31.3 vs. 34.1% of DM) and starch (21.5 vs. 22.9% of DM) and higher ROM
314 (18.5 vs. 14.0% of DM) and NFC (40.0 vs. 36.9% of DM) than diets GF.

315 The concentrations of roughage ($39.7 \pm 0.74\%$ of DM), whole cottonseeds,
316 ensiled corn grain, soybean meal, and CP ($17.3 \pm 0.15\%$ of DM) were similar across
317 diets (Table 4). Diet CO-GF had the highest proportion of the NDF from CGF (22.6%
318 of NDF). Diet CO-CD had the lowest NDF concentration (29.8% of DM) and the highest
319 concentrations of NFC and ROM (41.5 and 19.5% of DM, respectively). Diets CO
320 reduced the proportion of dietary starch from whole plant corn silage relative to CS.

321 The proportion of TMR particles retained on each screen of the PSPS was
322 similar on all diets both on a DM and on an as-fed basis (Table 5). Diet GF slightly
323 increased the concentration of NDF in the bottom pan of PSPS relative to CD (13.4 vs.
324 11.1% of DM). However, the partial replacement of whole plant corn silage by WF
325 Comidão reduced the concentration of calculated $peNDF_{>8}$ in the diet (19.2 vs. 21.8%
326 of DM). The method of measuring $peNDF_{>8}$ had large impact on this estimate of NDF
327 effectiveness. The calculation of $peNDF_{>8}$ from the concentration in the diet and
328 composition of long feeds generated an estimate on average 6.5%-units of DM higher
329 than estimating $peNDF_{>8}$ from TMR particle size and NDF content. This difference in
330 prediction resulted in a mean difference in $peNDF_{>8}$ intake of 1,21 kg/d among cows

331 across all 4 diets, the difference ranging from 0.54 to 1.73 kg/d (Figure 1). The
332 difference between calculated and estimated $peNDF_{>8}$ was higher on diets CS than
333 diets CO (7.3 vs 5.8%-units of DM) (Table 5). Diets GF had similar $peNDF_{>8}$ content
334 than diets CD (20.7 vs. 20.2 % of DM for estimated and 14.7 vs. 13.3% of DM for
335 calculated). Citrus pulp pellets and whole cottonseeds were totally retained on the
336 middle screen (8 mm) of PSPS.

337 ***Lactation performance and feed efficiency***

338 Dry matter intake, lactation performance, and feed efficiencies are in Table 6.
339 The CO increased DMI relative to CS (21.2 vs. 20.2 kg/d) and there was a trend for
340 CD to increase DMI relative to GF (21.0 vs. 20.4 kg/d). The DOMI was higher on CO
341 than CS and on CD than GF. The GF reduced the yields of milk (29.6 vs. 30.8 kg/d)
342 and protein (0.936 vs. 0.990 kg/d) and protein content (3.10 vs. 3.17%) relative to CD.
343 Milk fat content was higher on CS than CO (3.37 vs. 3.24%). Interactions between F
344 and C were detected for ECM, 4% FCM, and the yields of fat and total solids. There
345 was no effect of CD relative to GF on solids corrected milk yield when it was added to
346 diet CO, but CD increased solids corrected milk yield when added to CS. The same
347 trend was observed for milk lactose yield. The highest ECM was on diet CS-CD (30.0
348 kg/d) and cows on diet CS-GF yielded 27.8 kg/d. The CO reduced feed efficiency
349 relative to CS due to the higher DMI at similar milk yield. The 4% FCM/DMI was lower
350 and ECM/DMI and Milk/DMI tended to be lower on CO than CS. The BW, BCS, and
351 milk SCC did not differ.

352 ***Chewing behavior***

353 The smaller particle size and lower NDF content of WF Comidão compared to
354 whole plant corn silage reduced the calculated $peNDF_{>8}$ intake (- 0.3 kg/d) and $peNDF_{>8}$,
355 FNDF, and total NDF as % of BW of diets CO relative to CS (Table 7). Diets CO
356 reduced meal duration (33.3 vs. 35.0 min), the duration of the largest daily meal (59.0
357 vs. 67.0 min), eating in min/d (282 vs. 297) and min/kg of DMI (13.5 vs. 14.7), and
358 rumination in min/d (458 vs. 485) and min/kg of DMI (21.8 vs 23.8). Rumination and
359 eating per unit of $peNDF_{>8}$ and meal size (kg) were not affected by roughage source.
360 There was a trend for the CO diets to increase sorting in favor of long feed particles (>
361 19 mm) at night.

362 The replacement of CGF by citrus pulp plus DDG did not affect the intake of
 363 $peNDF_{>8}$, FNDF, and NDF as % of BW (Table 7). However, diets CD reduced meals
 364 per day (8.4 vs. 8.8) and increased mean meal size (2.73 vs. 2.51 kg) and duration
 365 (35.0 vs. 33.2 min). Diets CD also increased the size (4.93 vs. 4.43 kg) and duration
 366 (66 vs. 60 min) and reduced the moment post-feeding (463 vs. 482 min) of the largest
 367 daily meal. The CD diets reduced rumination (min/d, min/kg DMI, and min/kg $peNDF_{>8}$),
 368 had no effect on eating time per DMI, and tended to reduce the rejection of particles in
 369 the middle screen of the PSPS in the afternoon relative to GF.

370 Significant interactions were detected between F and C (Table 7). Diet CS-CD had
 371 the highest duration of the first daily meal (56.8 min), the lowest proportion of daily
 372 intake at night (19.4%), and the other diets did not differ (44.3 and 23.0%, respectively).
 373 The proportion of daily intake in the morning was higher on CS-CD (39.6%) than on
 374 CS-GF (36.2%). Diet CS-CD also induced higher eating time (min/d) than the two CO
 375 diets (303 vs. 282). The GF increased eating time per $peNDF_{>8}$ when added to CO (75
 376 vs. 70 min) and had no effect when added to CS. Total chewing time per $peNDF_{>8}$ was
 377 highest on CO-GF and did not differ for the other diets (198 vs. 183 min).

378 ***Digestibility, rumen microbial yield, energy and N usage***

379 Significant interactions $F \times C$ were detected for the total tract digestibilities of DM
 380 and OM and trends were detected for NDF and non-NDF OM (Table 8). The NDF
 381 digestibility coefficient was lowest on CO-GF and did not differ among the other diets
 382 (46.0 vs. 51.1%). Within CO, the DM, OM, and non-NDF OM digestibility coefficients
 383 were lower on GF than CD, but did not differ within CS. The CD reduced ECM/DOMI
 384 relative to GF when added to CO (1.95 vs. 2.22), but had no effect when added to CS
 385 (Table 6), suggestive of lowest efficiency of digestible energy usage on CO-CD. Starch
 386 digestibility was higher on CS than CO (97.4 vs. 95.8%) and on GF than CD (95.9 vs.
 387 92.2%) and fecal starch concentration was lower on CS (1.8 vs. 3.1% of DM) and GF
 388 (1.9 vs. 3.0% of DM) relative to CO and CD, respectively. Even with lower total tract
 389 digestibility coefficient, the intake of digestible starch was higher on CO than CS (4.5
 390 vs. 4.1 kg/d). The intake of digestible NDF tended to be higher on CS than CO (3.4 vs.
 391 3.2 kg/d) and the intake of digestible starch tended to be higher on GF than CD (4.4
 392 vs. 4.2 kg/d).

393 Diets CD reduced PUN (22.1 vs. 23.4 mg/dL) relative to GF (Table 8) and there
394 were also trends for CD to reduce MUN (20.8 vs. 21.8 mg/dL) and to increase NUE
395 (26.8 vs. 25.8%) (Table 6). Diets CD increased PUN immediately before eating after
396 the morning milking and 2 h after eating following the afternoon milking (Figure 2).
397 Rumen microbial yield and efficiency did not differ (Table 8). Urine excretion was
398 increased by CO relative to CS (33.4 vs. 27.9 L/d).

399 ***Aerobic stability and microbiology of feeds***

400 Diets CS had lower aerobic stability (time for TMR temperature to achieve 2°C
401 above environment) than diets CO (949 vs. 1102 min) for the TMR placed in buckets in
402 the feed alley for 24 h (Table 9). The TMR temperature over time is presented in Figure
403 3. The highest TMR temperature was 25.0°C, was achieved with 499 min when
404 measured on-farm, and did not differ among treatments. For the aerobic stability
405 measurement performed in the laboratory for 48 h, diet CS-GF had lower aerobic
406 stability than CO-GF (1260 vs. 2205 min) and diet CS-CD did not differ from CO-CD
407 (1935 min). For the laboratory evaluation, the 24 h maximum and mean temperatures
408 had realistic values in relation to the feed alley TMR temperature. The laboratory 24 h
409 maximum and mean temperatures were highest on CS-GF (28.1 and 24.5°C),
410 intermediate on CO-CD (25.2 and 23.5°C), and lowest on CS-CD and CO-GF (23.8
411 and 22.9°C). The mean temperature from 24 to 48 h in the laboratory was much higher
412 than the mean from 0 to 24 h (31.4 vs. 23.4°C), a similar trend to the maximum
413 temperature (37.7 vs. 25.3°C). The pattern of variation in TMR heating using the 24 to
414 48 h evaluation followed the same trend across treatments as the 24 h evaluation.
415 The TMR temperature measured in the laboratory over time is in Figure 4. The WF
416 Comidão was apparently more stable to aerobic deterioration in 24 h than whole plant
417 corn silage, but roughage source interacted with concentrate type. The CS-GF diet
418 was the least stable to aerobic exposure.

419 The internal temperature of the TMR at the feed-bunk and subjected to pushing-
420 up during the day was warmer on CS-CD immediately after feeding (0700 h), did not
421 differ at 1200 h, and was warmer on CS-GF and CO-CD than on CS-CD and CO-GF
422 at 1900 h (Figure 5). The pH of the TMR was lower on CS than CO (5.03 vs. 5.07) and
423 on GF than CD (5.02 vs. 5.08) (Table 9). The CS diets had lower pH than CO at 0700

424 h, 1200 h, and 1900 h after feeding, but the pH of the daily refusal (0700 h) did not
425 differ (Figure 6).

426 ***Economics***

427 Milk value tended to be lower on GF than CD (0.439 vs. 0.444 US\$/kg) (Table
428 10) due to the reduction in milk yield per 100 cows and milk protein concentration.
429 Roughage source did not affect milk value. At low cost of whole plant corn silage
430 (production cost) the nutritional strategies evaluated had higher impact on daily feed
431 cost per cow and income over feed cost than when corn silage was priced at twice that
432 value (opportunity cost). In both scenarios, the CS diets improved income over feed
433 cost per cow relative to CO, but the type of concentrate had no effect on return per
434 cow.

435

DISCUSSION

436 The nutritional strategies evaluated were performed with diets that were not
437 supposed to induce excessive filling of the digestive tract by NDF. It is supported by
438 the low values for the various forms of expressing NDF intake as a proportion of BW
439 (Mertens, 1997). The intake of FDNF was 0.66% of BW on CS diets and 0.60% of BW
440 on CO diets.

441 The concentration of estimated $peNDF_{>8}$ in the diet (Zebeli et al., 2012) ranged
442 from 12.6% (CO-CD) to 15.4% of DM (CS-GF) and underestimated the calculated
443 $peNDF_{>8}$ concentration based on the chemical analysis and particle size distribution of
444 feedstuffs supplying long fiber. The GF diets had greater proportional increase in
445 $peNDF_{>8}$ concentration when $peNDF_{>8}$ was estimated from TMR particle size than when
446 it was calculated from individual feed analyses. This emphasizes the predictive error
447 of the former methodology that assumes a constant NDF concentration on each TMR
448 particle size fraction and does not consider the retention of feed particles without
449 physical NDF value on the 8 mm screen of PSPS (such as citrus pulp pellets and fine
450 feeds attached to roughages). The estimated $peNDF_{>8}$ reduced the calculated intake of
451 $peNDF_{>8}$ by a mean value of 1.21 kg/d (Figure 1) and the mean difference in diet
452 $peNDF_{>8}$ content was 6.6%-units (14.5 vs. 20.5% of DM). This difference in $peNDF_{>8}$
453 intake was greater than the 0.71 kg/d of data presented by Carneiro (2016) for groups
454 of cows in 20 Brazil's Paraná state dairy herds. In the farm data set, the calculated

455 $peNDF_{>8}$ of the diet was generated by analyzing the TMR fractions retained on each
456 screen of PSPS and the mean difference in $peNDF_{>8}$ content was 3.1%-units (19.9 vs.
457 23.0% of DM). In the study of Yang and Beauchemin (2006) an increase in 3.5%
458 $peNDF_{>8}$ -units of DM was observed between the calculated and estimated $peNDF_{>8}$ of
459 diets (14.2 vs. 17.6% of DM), generating a mean difference in $peNDF_{>8}$ intake of 0.73
460 kg/d (3.40 vs. 4.13 kg/d). Likewise, Bhandari et al. (2007) observed a difference in
461 $peNDF_{>8}$ intake of 0.83 kg/d between estimated and calculated $peNDF_{>8}$ (4.08 vs.
462 4.91kg/d) and a increment of 3.7% $peNDF_{>8}$ -units in DM (18.0 vs. 21.7% of DM), The
463 greater difference between estimated and calculated $peNDF_{>8}$ in our experiment may
464 have been the result of the high content of fibrous co-products in the diet and possible
465 differences in calculating $peNDF_{>8}$. The calculated $peNDF_{>8}$ from feed analyses was
466 used to evaluate $peNDF_{>8}$ intake and chewing activity in our experiment.

467 Model predicted rumen pH (Zebeli et al., 2010) based on the estimated $peNDF_{>8}$
468 (Zebeli et al., 2012), diet starch concentration, and DMI were: 6.19 for CS-GF, 6.17 for
469 CS-CD, 6.14 for CO-GF, and 6.11 for CO-CD (mean 6.15). Based on this equation,
470 the estimated $peNDF_{>8}$ of the diet had to be 16.6% of DM to achieve a rumen pH of
471 6.20 for the mean dietary starch content (22.2% of DM) and DMI (20.7 kg/d). Assuming
472 a constant difference of 6.6%-units of DM between the calculated and the estimated
473 $peNDF_{>8}$ concentrations, the calculated $peNDF_{>8}$ had to be 23.2% of DM for a pH 6.2 to
474 be achieved on these corn silage based diets. Experimental diets had 20.5% of
475 calculated $peNDF_{>8}$ in DM, suggesting that the experiment was performed under
476 relatively low rumen pH, although the dietary starch concentrations were not
477 excessively high. The theoretical high acidogenicity of the diets is supported by the low
478 milk fat content (3.30%) at 30.2 kg/d of milk yield and milk fat to protein ratios ranging
479 from 1.01 (CO-CD) to 1.08 (CS-CD) (mean 1.05). The similarity in rumen microbial
480 yield suggests that diet composition did not affect rumen function.

481 The partial replacement of whole plant corn silage by WF Comidão reduced diet
482 particle size and NDF concentration and slightly increased starch, ROM, and NFC of
483 the CO diets. Diets CS had higher proportions of the NDF and starch from corn silage
484 and lower proportions from WF Comidão. Diets CS reduced DOMI, increased the
485 intake of NDF, and $peNDF_{>8}$, tended to increase digestible NDF intake, reduced
486 digestible starch intake even at higher total tract starch digestibility, and increased milk
487 fat concentration and feed efficiency relative to CO. The diet CS-CD induced the

488 highest ECM due to the increase in milk fat secretion. The similarity in the total tract
489 digestibility coefficient of NDF suggests that the NDF in WF Comidão and CGF were
490 as digestible as the NDF in whole plant corn silage, although diet CO-GF had the
491 lowest NDF digestibility coefficient. Negative associative effects of the low rumen pH
492 and starch on the ruminal degradation of NDF (Grant and Mertens, 1992; Russell and
493 Wilson, 1996) may have reduced the NDF digestibility of CO-GF, since the
494 replacement of CGF by citrus pulp plus DDG in diet CO-CD increased NDF digestibility.
495 Diet CO-GF had the highest starch concentration and the highest proportion of CGF
496 NDF, and diet CO-CD had the highest concentration of ROM. The CGF had 13.5%
497 starch and citrus pulp had 57.3% ROM in DM. The partial replacement of corn starch
498 by citrus pulp pectin may have contributed to the increase in NDF digestibility of CO-
499 CD. Although citrus pulp is capable of reducing rumen pH as acutely as ground corn
500 (Pereira et al., 2015), rumen microbes degrading pectin may have the capacity to
501 degrade hemicelulose (Osborne and Dehority, 1989), suggesting the possibility of
502 synergism between pectin and fiber digestibility when citrus pulp substituted CGF in
503 the low roughage diet.

504 Starch in whole plant corn silage was apparently more digestible than starch in
505 WF Comidão, as suggested by the higher total tract starch digestibility coefficient of
506 the CS than CO diets. A significant portion of visible corn kernels in WF Comidão were
507 intact and were harvested at the mature stage of growth while starch in corn silage
508 was harvested at an immature stage (1/3 milk line) and was totally processed.
509 However, the intake of digestible starch was higher on CO than CS, due to the higher
510 DMI of the former. The CO diets induced higher DOMI than CS, but did not affect milk
511 yield. Feed efficiency was lower on CO than CS. Intake depression may occur at
512 estimated $p_e\text{NDF}_{>8}$ greater than 14.9% of DM (Zebeli et al., 2012). The increase in diet
513 $p_e\text{NDF}_{>8}$ induced by corn silage may explain the lower intake of DOMI on CS than CO.
514 The filling of the digestive tract by long NDF is a plausible cause for reduced intake
515 (Mertens, 1997; Allen, 2000). Diets CO also were less prone to heating following
516 aerobic exposure, what may have acted favorably on intake. However, the ECM/DOMI
517 efficiency was lower on CO-CD than CO-GF. A higher supply of pectin and sucrose
518 and a lower supply of starch to ruminal fermentation may have decreased the
519 proportion of propionate and increased the proportion of acetate and butyrate in
520 ruminal fermentation (Broderick et al., 2002; Dann et al., 2014; Castro et al., 2019) and

521 consequently the excretion of methane per unit of DOMI with CO-CD, reducing the
522 efficiency of use of digested energy on this diet. Unfortunately we did not measure
523 rumen volatile fatty acid profile neither methane excretion.

524 The partial replacement of CGF by citrus pulp plus DDG increased DOMI, milk
525 and protein yields, milk protein concentration, and had no effect on feed efficiency. The
526 intake of $peNDF_{>8}$ was similar and the total NDF intake as % of BW was higher on GF
527 than CD. Intake regulation in response to the change in diet concentrate profile was
528 not mediated by $peNDF_{>8}$ intake. High-fiber coproducts of cereals with short particle
529 size did not limit NDF intake such as FNDF when added to low forage diets (Pereira
530 and Armentano, 2000; Darabighane et al., 2020). Low forage diets with increased
531 inclusion of fibrous coproducts did not increase the ruminal NDF content and digesta
532 volume relative to the increase in dietary alfalfa concentration (Pereira et al., 1999).
533 The ruminal fractional passage rate of NDF may be faster when CGF replaces other
534 feedstuffs (Allen and Grant, 2000; Mullins et al., 2010; Sullivan et al., 2012). The intake
535 of digestible NDF did not differ between the GF and CD diets. The increased DOMI of
536 the CD diets may have been the result of metabolic intake regulation driven by the
537 difference in the chemical nature of the carbohydrates and rumen fermentation profile.
538 The intake of digestible starch tended to be higher on GF than CD and was associated
539 with reduced DOMI. Propionate from ruminal starch degradation is a known depressor
540 of DMI (Allen et al., 2009). Feed efficiency was not affected by the type of concentrate,
541 even with increased milk yield on CD. As already discussed, the highest ECM was
542 observed on CS-CD, suggesting that the diet more adequate in $peNDF_{>8}$, with ROM
543 from citrus pulp, and protein from DDG was the most stimulatory of solids corrected
544 milk yield.

545 The CD diets increased milk protein concentration and yield, reduced MUN and
546 PUN, and increased NUE. Although pectin may limit rumen microbial yield when
547 replacing dietary starch (Hall and Heredjk, 2001), rumen microbial yield did not differ
548 in this experiment. The increased efficiency of N usage on diets CD was probably the
549 result of increased supply of MP from DDG (FlexyPro). The improved MP supply on
550 CD diets may have increased blood EAA and milk protein and lactose secretions
551 relative to GF (Appuhamy et al., 2011; Yoder et al., 2020). The protein in FlexyPro has
552 been shown to be less degradable in the rumen than soybean meal protein (Dias et

553 al., 2021; Vasconcelos et al., 2021), and in conjunction with the change in diet
554 carbohydrate profile, may be involved on the highest ECM yield observed on CS-CD.

555 Diets had major effect on chewing behavior. Cows took longer to eat the same
556 amount of DM, had longer eating time per day, ruminated more, and had longer meals
557 on CS than CO. Both the mean meal duration and the largest daily meal duration were
558 increased by CS and no change due to roughage source was observed on meal size
559 and daily frequency. The increase in diet $peNDF_{>8}$ reduced the rate of eating and
560 increased rumination per unit of DMI, associated to lower DMI on CS than CO.
561 Curiously, eating and rumination behaviors per unit of $peNDF_{>8}$ intake did not differ,
562 suggesting that the physical effectiveness of the long NDF in WF Comidão was similar
563 to long NDF in corn silage, supporting the concept that the NDF in mature corn husks
564 was as digestible as the NDF in immature whole plant corn silage. Cows on CS also
565 tended to be more selective against feed particles on the 19 mm screen at night. The
566 supplementation of dairy cows with exogenous amylase capable of increasing ruminal
567 starch degradation increased sorting in favor of long feed particles and the rejection of
568 short particles (Andreazzi et al., 2018) and experimental induction of acidosis have
569 induced preferential consumption of long feed particles (DeVries et al., 2008; Maulfair
570 et al., 2013), suggesting changes in sorting behavior to attenuate a reduction in ruminal
571 pH. Diets CS increased chewing behavior and reduced digestible starch intake,
572 suggestive of being less acidogenic than the CO diets. Diet CS-CD, the diet with
573 highest ECM, increased the proportion of daily intake in the morning, reduced the
574 proportion at night, and increased the duration of the first daily meal. The lower intake
575 of digestible starch on the CS diets is probably related to the observed changes in
576 eating behavior.

577 The partial replacement of CGF by citrus pulp plus DDG reduced meals per day
578 and increased meal size and duration. The size of the largest meal and largest meal
579 duration were also increased by CD. The CD diets reduced rumination per day, per
580 unit of DMI, and per unit of $peNDF_{>8}$ intake. These changes were associated to
581 increased DMI on CD and probably reflect the trend for reduction in digestible starch
582 intake and the slightly higher dietary concentration of $peNDF_{>8}$ induced by more FNDF
583 in the CD diets. However, the increase in rumination behavior per unit of $peNDF_{>8}$ intake
584 on CD, at similar intake of $peNDF_{>8}$ and FDNF, suggests that CGF had a beneficial
585 effect on rumination. Allen and Grant (2000) observed that CGF NDF was 0.13 as

586 effective as alfalfa NDF in increasing rumen pH and 0.11 as effective in stimulating
587 rumination time. In the afternoon, the CD diets tended to reduce sorting against feed
588 particles in the middle screen of the PSPS and CO-CD had lower selective sorting in
589 favor of the bottom screen than CO-GF, probably reflecting sorting in favor of citrus
590 pulp pellets retained on the 8 mm screen.

591 The ensiling of multiple feed ingredients is a strategy to store wet coproducts
592 (Nishino et al., 2003; Mjoun et al., 2011). The heating of ensiled feeds following aerobic
593 exposure may affect DMI of ruminants (Gerlach et al., 2013). The aerobic stability of
594 feeds depends on several factors, such as the populations of yeast and other aerobic
595 microorganisms, oxygen concentration, metabolites produced during silage storage,
596 pH, soluble carbohydrate content, and environmental temperature and humidity (Pitt et
597 al., 1991; Ávila and Carvalho, 2020). Yeast or moulds above 10^5 cfu per gram can be
598 indicative of aerobic deterioration (Borreani et al., 2018). The population of yeast was
599 lower in WF Comidão (< 2.26 log cfu/g) than whole plant corn silage from Minas Gerais
600 farms (3.82 log cfu/g) and filamentous fungi was similar to corn silage (2.25 vs. 2.13
601 log cfu/g) (Santos et al., 2018).

602 The on-farm TMR temperature was cooler on CO than CS, suggesting that CO
603 diets were more aerobically stable. The CO TMR had higher pH during the day (0700
604 to 1900 h) than CS. By 0500 h (22 h post-feeding), the TMR pH did not differ. This data
605 suggests that roughage source affected TMR pH and temperature during the day. The
606 proportional increase in silage pH during the day was more accentuated on CS than
607 CO, suggesting that CS diets lost aerobic stability faster than CO. Silages with change
608 in pH greater than 0.5 units over 5 d of aerobic exposure have been considered
609 unstable (Wilkson and Davis, 2012). The greater stability of CO during aerobic
610 exposure was associated to reductions in surface temperature of the feed pile and the
611 mean temperature on-farm ($- 0.4^\circ\text{C}$), but did not affect the moment of highest TMR
612 temperature (499 min post-feeding). The increase in corn silage temperature was
613 negatively correlated with DMI of goats (Gerlach et al., 2013).

614 The evaluation of aerobic stability in a controlled laboratory temperature ($24.9 \pm$
615 1.17°C) suggested that microbial growth was inhibited and then started again, since
616 the temperature of CS-GF was reduced between 32 h and 40 h of aerobic exposure
617 and then increased again. It is known that at the beginning of the aerobic deterioration
618 of silages the growth of yeast and acetic acid bacteria increase silage temperature, the

619 limitation in substrates inhibit yeast development and decrease temperature, and
620 further rise in silage temperature is associated with the growth of fungi (Wilkson and
621 Davis, 2012). When evaluated in the laboratory, the CS-GF TMR was the most
622 unstable, but this evidence was not supported by the temperature of the TMR on-farm.

623

CONCLUSION

624 The combination of whole plant corn silage with citrus pulp plus DDG induced
625 the highest ECM compared to corn ear fibrous coproduct and CGF combinations. The
626 CO diets had smaller particle size than CS, reduced the intake of $peNDF_{>8}$, increased
627 DOMI, had no effect on milk yield, and reduced feed efficiency, probably because of
628 lower filling of the digestive tract by long NDF. The CO diets increased the intake of
629 digestible starch, reduced rumination and milk fat, and apparently improved TMR
630 aerobic stability. The CO TMR had lower temperature on-farm than CS. The GF diets
631 had higher NDF at similar particle size of diets CD. The CD diets increased DOMI, milk
632 yield, and milk protein, reduced the intake of digestible starch, and did not affect the
633 intake of $peNDF_{>8}$ and feed efficiency. Diet composition affected chewing behavior and
634 total tract digestibility, with no change in rumen microbial yield. Intake regulation was
635 apparently driven by physical diet characteristics when CO replaced CS and by
636 chemical diet composition when CD replaced GF. The regulation of feed intake by long
637 NDF occurred in a theoretically low forage diet in response to change in roughage
638 source and the intake of digestible starch was apparently involved on intake regulation
639 and chewing behavior when the nature of concentrates was altered at constant
640 roughage in the diet. All nutritional strategies evaluated were nutritionally viable,
641 although there was a trend for income over cost to be higher on CS than CO and type
642 of concentrate had no effect on return per cow.

643

REFERENCES

644 Allen, D. M., and R. J. Grant. 2000. Interactions between forage and wet corn gluten
645 feed as sources of fiber in diets for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:322–331.
646
647 Allen, M. S., B. J. Bradford, and M. Oba. 2009. Board-invited review: The hepatic
648 oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *J. Anim.*
649 *Sci.* 87:3317-3334.
650

- 651 Allen, M. S., and Y. YING. 2021a. Effects of corn grain endosperm type and
652 conservation method on feed intake, feeding behavior, and productive performance of
653 lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 104:7604-7616.
654
- 655 Allen, M. S., and Y. YING. 2021b. Effects of corn grain endosperm type and
656 conservation method on site of digestion, ruminal digestion kinetics, and flow of
657 nitrogen fractions to the duodenum in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 104:7617-
658 7629.
659
- 660 Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating
661 dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598–1624.
662
- 663 Andreazzi, A. S., M. N. Pereira, R. B. Reis, R. A. Pereira, N. N. M. Júnior, T. S. Acedo,
664 R. G. Hermes, and C. S. Cortinhas. 2018. Effect of exogenous amylase on lactation
665 performance of dairy cows fed a high-starch diet. *J. Dairy Sci.* 101:7199-7207.
666
- 667 Appuhamy, J. A. D. R. N., J. R. Knapp, O. Becvar, J. Escobar, and M. D. Hanigan.
668 2011. Effects of jugular-infused lysine, methionine, and branched-chain amino acids
669 on milk protein synthesis in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:1952-1960.
670
- 671 Armentano, L.; and M. N. Pereira. 1997. Measuring the effectiveness of fiber by animal
672 response trials. *J. Dairy Sci.* 80:1416-1425.
673
- 674 Ávila, C. L. S., and B. F. Carvalho. 2020. Silage fermentation—updates focusing on the
675 performance of micro-organisms. *J. Appl. Microbiol.* 128:966-984.
676
- 677 Bhandari, S. K., K. H. Ominski, K. M. Wittenberg, and J. C. Plaizier. 2007. Effects of
678 chop length of alfalfa and corn silage on milk production and rumen fermentation of
679 dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:2355-2366.
680
- 681 Borreani, G. I. O. R. G. I. O., E. Tabacco, R. J. Schmidt, B. J. Holmes, and R. E. Muck.
682 2018. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *J. Dairy*
683 *Sci.* 101:3952-3979.
684
- 685 Broderick, G. A., D. R. Mertens, and R. Simons. 2002. Efficacy of carbohydrate
686 sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. *J. Dairy Sci.*
687 85:1767-1776.
688
- 689 Carneiro, J. H. 2016. Nutrição de precisão em dietas de vacas leiteiras de alta
690 produção e seus impactos na produção e composição do leite. MS Thesis. Department
691 of Animal Science, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brazil.
692
- 693 Casperson, B. A., A. E. Wertz-Lutz, J. L. Dunn, and S. S. Donkin. 2018. Inclusion of
694 calcium hydroxide-treated corn stover as a partial forage replacement in diets for
695 lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:2027-2036.
696
- 697 Castro, L. P., M. N. Pereira, J. D. Dias, D. V. Lage, E. F. Barbosa, R. P. Melo, K.
698 Ferreira, F. T. R. Carvalho, F. F. Cardoso, and R. A. N. Pereira. 2019. Lactation

- 699 performance of dairy cows fed rehydrated and ensiled corn grain differing in particle
700 size and proportion in the diet. *J. Dairy Sci.* 102:9857-9869.
701
- 702 Chen, X. B., and M. J. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep
703 and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: An overview of technical
704 details. *Int. Feed Res. Unit, Occasional Publ.* Rowett Research Institute, Aberdeen,
705 UK.
706
- 707 Dann, H. M., H. A. Tucker, K. W. Cotanch, P. D. Krawczel, C. S. Mooney, R. J. Grant,
708 and T. Eguchi. 2014. Evaluation of lower-starch diets for lactating Holstein dairy cows.
709 *J. Dairy Sci.* 97:7151-7161.
710
- 711 Darabighane, B., F. M. Aghjehgheshlagh, A. Mahdavi, B. Navidshad, and J. K.
712 Bernard. 2020. Effects of inclusion of corn gluten feed in dairy rations on dry matter
713 intake, milk yield, milk components, and ruminal fermentation parameters: a meta-
714 analysis. *Trop Anim Health Prod.* 52:2359-2369.
715
- 716 DeVries, T. J., F. Dohme, and K. A. Beauchemin. 2008. Repeated ruminal acidosis
717 challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feed
718 sorting. *J. Dairy Sci.* 91:3958-3967.
719
- 720 Dušková, D., and M. Marounek. 2001. Fermentation of pectin and glucose, and activity
721 of pectin-degrading enzymes in the rumen bacterium *Lachnospira multiparus*. *Letters*
722 *in Appl Microbiol.* 33:159-163.
723
- 724 Gerlach, K., F. Roß, K. Weiss, W. Büscher, and K. H. Südekum. 2013. Changes in
725 maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry
726 matter intake by goats. *Agric. Food Sci.* 22:168–181.
727
- 728 Grant, R. H., and D. R. Mertens. 1992. Influence of buffer pH and raw corn starch
729 addition on in vitro fiber digestion kinetics. *J. Dairy Sci.* 75:2762-2768.
730
- 731 Gunderson, S. L., A. A. Aguilar, D. E. Johnson, and J. D. Olson. 1988. Nutritional value
732 of wet corn gluten feed for sheep and lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:1204–1210.
733
- 734 Hall, M. B. 2009. Determination of starch, including maltooligosaccharides, in animal
735 feeds: Comparison of methods and a method recommended for AOAC collaborative
736 study. *J. AOAC Int.* 92:42–49
737
- 738 Hall, M. B., and C. Herejk. 2001. Differences in yields of microbial crude protein from
739 in vitro fermentation of carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 84:2486-2493.
740
- 741 Jami, E., N. Shterzer, E. Yosef, M. Nikbachat, J. Miron, and I. Mizrahi. 2014. Effects of
742 including NaOH-treated corn straw as a substitute for wheat hay in the ration of
743 lactating cows on performance, digestibility, and rumen microbial profile. *J. Dairy Sci.*
744 97:1623–1633.
745
- 746 Dias, J. D. L., J. P. Santos, R. B. Silva, J. T. R. Carvalho, R. A. N. Pereira, and M. N.
747 Pereira. 2021. Partial replacement of soybean meal with corn distillers dried grains with

- 748 yeast for dairy cows. 56^a Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Florianópolis,
749 Santa Catarina, Brazil.
750
- 751 Lammers, B. P., D. R. Buckmaster, and A. J. Heinrich. 1996. A simple method for the
752 analysis of particle sizes of forages and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79:922–928.
753
- 754 Leiva, E., M. B. Hall, and H. H Van Horn. 2000. Performance of dairy cattle fed citrus
755 pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. *J. Dairy*
756 *Sci.* 83:2866-2875.
757
- 758 Maulfair, D. D., K. K. McIntyre, and A. J. Heinrichs. 2013. Subacute ruminal acidosis
759 and total mixed ration preference in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:6610-6620.
760
- 761 Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy
762 cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463–1481.
763
- 764 Mjoun, K., K. F. Kalscheur, and A. D. Garcia. 2011. Fermentation characteristics and
765 aerobic stability of wet corn distillers grains with solubles ensiled in combination with
766 whole plant corn. *J Sci Food Agric.* 91:1336-1340.
767
- 768 Mullins, C. R., K. N. Grigsby, D. E. Anderson, E. C. Titgemeyer, and B. J. Bradford.
769 2010. Effects of feeding increasing levels of wet corn gluten feed on production and
770 ruminal fermentation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:5329-5337.
771
- 772 Mullins, C. R., L. K. Mamedova, M. J. Brouk, C. E. Moore, H. B. Green, K. L. Perfield,
773 J. F. Smith, J. P. Harner, and B. J. Bradford. 2012. Effects of monensin on metabolic
774 parameters, feeding behavior, and productivity of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*
775 95:1323–1336.
776
- 777 Miron, J., E. Yosef, D. Ben-Ghedalia, L. E. Chase, D. E. Bauman, and R. Solomon.
778 2002. Digestibility by dairy cows of monosaccharide constituents in total mixed rations
779 containing citrus pulp. *J. Dairy Sci.* 85:89-94.
780
- 781 National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed.
782 Natl. Acad. Press, Washington, DC.
783
- 784 Nishino, N., H. Harada, and E. Sakaguchi. 2003. Evaluation of fermentation and
785 aerobic stability of wet brewers' grains ensiled alone or in combination with various
786 feeds as a total mixed ration. *J Sci Food Agric.*
787
- 788 Osborne, J. M., and B. A. Dehority. 1989. Synergism in degradation and utilization of
789 intact forage cellulose, hemicellulose, and pectin by three pure cultures of ruminal
790 bacteria. *J Appl Environ Microbiol.* 55:2247-2250.
791
- 792 Oude Elferink, S. J. W. H., J. Krooneman, J. C. Gottschal, S. F. Spoelstra, F. Faber,
793 and F. Driehuis. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2-
794 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *J. Appl Environ Microbiol.* 67:125-132.
795

- 796 Paterson, J. A., T. J. Klopfenstein, and R. A. Britton. 1981. Ammonia treatment of corn
797 plant residues: digestibilities and growth rates. *J. Anim. Sci.* 53:1592-1600.
798
- 799 Pereira, M. N., and L. E. Armentano. 2000. Partial replacement of forage with
800 nonforage fiber sources in lactating cow diets. II. Digestion and rumen function. *J. Dairy*
801 *Sci.* 83:2876-2887.
802
- 803 Pereira, M. N., E. F. Garrett, G. R. Oetzel, and L. E. Armentano. 1999. Partial
804 replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cow diets. I.
805 Performance and health. *J. Dairy Sci.* 82:2716–2730.
806
- 807 Pereira, M. N., H. N. Costa, R. P. Melo, M. L. Chaves, R. F. Lima, and R. A. N. Pereira.
808 2015. Efeito do ambiente ruminal sobre a degradabilidade de colmos da cana-de-
809 açúcar. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 67:511-518.
810
- 811 Petzel, E. A., E. C. Titgemeyer, A. J. Smart, K. E. Hales, A. P. Foote, S. Acharya, E.
812 A. Bailey, F. E. Helde, and D. W. Brake. 2019. What is the digestibility and caloric value
813 of different botanical parts in corn residue to cattle?. *J. Anim. Sci.* 97:3056-3070.
814
- 815 Pitt, R. E., R. E. Muck, and N. B. Pickering. 1991. A model of aerobic fungal growth in
816 silage. 2. Aerobic stability. *Grass Forage Sci.* 46:301-312.
817
- 818 Ranjit, N. K., and L. Kung Jr. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus*
819 *plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn
820 silage. *J. Dairy Sci.* 83:526-535.
821
- 822 Russell, J. B., and D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to
823 digest cellulose at low pH?. *J. Dairy Sci.* 79:1503-1509.
824
- 825 Salvador, S. C., M. N. Pereira, J. F. Santos, L. Q. Melo, and M. L. Chaves. 2008.
826 Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à
827 suplementação com microminerais orgânicos I: Consumo e digestão. *Arq. Bras. Med.*
828 *Vet. Zootec.* 60:682-690.
829
- 830 Santos, A. D. O. D., G. S. Dias, G. S., M. N. Pereira, R. F. Schwan, and C. L. D. S.
831 Ávila. 2018. A survey of whole-plant corn silages from Minas Gerais dairy farms. *Sci.*
832 *Agri.* 77:
833
- 834 Stalker, L. A., H. Blanco-Canqui, J. A. Gigax, A. L. McGee, T. M. Shaver, and S. J. van
835 Donk. 2015. Corn residue stocking rate affects cattle performance but not subsequent
836 grain yield. *J. Anim. Sci.* 93:4977-4983.
837
- 838 Sullivan, M. L., K. N. Grigsby, and B. J. Bradford. 2012. Effects of wet corn gluten feed
839 on ruminal pH and productivity of lactating dairy cattle fed diets with sufficient physically
840 effective fiber. *J. Dairy Sci.* 95:5213–5220.
841
- 842 Van Soest, P. J. 2018. Carbohydrates. Pages 156-176 in *Nutritional Ecology of the*
843 *Ruminant*. Second Edition. Cornell university press. Ithaca, New York.
844

- 845 Vasconcelos, S. V. S. F., J. D. L. Dias, A. A. A. Simões, R. C. Paula, M. N. Pereira,
846 and M. A. C. Danés. 2021. Ruminal protein degradation kinetics and intestinal
847 digestibility of soybean meal, lignosulfonate-treated soybean meal, and high protein
848 distillers dried grains with yeast. 56^a Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia,
849 Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.
- 850
851 Veiga da Cunha M., and M. A. Foster. 1992. Sugar-glycerol cofermentations in
852 lactobacilli: the fate of lactate. *J. Bacteriol.* 174:1013-1019.
- 853
854 Wang, F., and N. Nishino. 2009. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic
855 stability of total mixed ration containing wet brewers grains preserved as a silage. *Anim*
856 *Feed Sci Technol.* 149:265-274.
- 857
858 Watson, A. K., J. C. MacDonald, G. E. Erickson, P. J. Kononoff, and T. J. Klopfenstein.
859 2015. Forages and pastures symposium: Optimizing the use of fibrous residues in beef
860 and dairy diets. *J. Anim. Sci.* 93:2616–2625.
- 861
862 Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, J. H. F. Troutt, and T. N.
863 Lesch. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to
864 standard production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65:495–501.
- 865
866 Wilkinson, J. M., and D. R. Davies. 2012. The aerobic stability of silage: key findings
867 and recent developments. *Grass Forage Sci.* 68:1-19.
- 868
869 Yoder, P. S., X. Huang, I. A. Teixeira, J. P. Cant, and M. D. Hanigan. 2020. Effects of
870 jugular infused methionine, lysine, and histidine as a group or leucine and isoleucine
871 as a group on production and metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*
872 103:2387-2404.
- 873
874 Zebeli, Q., J. R. Aschenbach, M. Tafaj, J. Boguhn, B. N. Ametaj, and W. Drochner.
875 2012. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber
876 adequacy in high-producing dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:1041-1056.
- 877
878 Zebeli, Q., D. Mansmann, B. N. Ametaj, H. Steingäß, and W. Drochner. 2010. A model
879 to optimise the requirements of lactating dairy cows for physically effective neutral
880 detergent fibre. *Arch. Anim. Nutr.* 64:265-278.
- 881
882 Zhang, G. N., Y. Li, C. Zhao, X. P. Fang, and Y. G. Zhang. 2021. Effect of substituting
883 wet corn gluten feed and corn stover for alfalfa hay in total mixed ration silage on
884 lactation performance in dairy cows. *Anim.* 15:100013.

885 Table 1. Composition of feed ingredients. Mean \pm SD of 4 composite samples from each experimental period

Nutrient	DM	CP	EE ¹	NDF	Ash	NFC ¹	Starch	ROM ¹
	% of as-fed					% of DM		
Whole plant corn silage	27.2 \pm 1.8	8.6 \pm 0.2	2.9 \pm 0.1	53.0 \pm 1.9	5.0 \pm 0.9	30.5 \pm 2.8	21.1 \pm 2.4	9.5 \pm 1.8
Corn ear fibrous coproduct ²	46.3 \pm 2.0	15.8 \pm 0.7	2.7 \pm 0.3	29.8 \pm 1.7	5.6 \pm 0.3	46.3 \pm 1.7	27.2 \pm 2.3	19.1 \pm 0.6
Wet corn gluten feed ³	51.1 \pm 0.9	25.5 \pm 0.9	1.3 \pm 0.2	37.9 \pm 4.2	5.5 \pm 0.8	29.9 \pm 3.0	13.5 \pm 0.6	16.4 \pm 3.6
Corn distillers dried grains ⁴	89.4 \pm 0.5	47.0 \pm 0.7	7.9 \pm 0.1	22.9 \pm 0.3	3.4 \pm 0.1	18.9 \pm 0.6	6.1 \pm 0.5	12.8 \pm 1.1
Citrus pulp pellets	88.2 \pm 0.4	8.0 \pm 0.5	1.9 \pm 0.1	20.0 \pm 0.4	5.6 \pm 0.2	64.6 \pm 0.9	7.3 \pm 0.6	57.3 \pm 1.0
Soybean meal	88.1 \pm 0.6	51.0 \pm 0.4	1.9 \pm 0.1	11.7 \pm 1.0	6.5 \pm 0.2	29.0 \pm 1.2	0.8 \pm 0.2	28.2 \pm 1.1
Ensiled corn grain	59.5 \pm 0.9	9.0 \pm 0.6	4.2 \pm 0.1	6.3 \pm 0.7	1.5 \pm 0.2	79.0 \pm 1.2	71.5 \pm 1.4	7.5 \pm 0.6
Whole cottonseeds	92.0 \pm 0.3	19.8 \pm 0.8	14.8 \pm 0.5	56.3 \pm 1.4	4.0 \pm 0.2	5.1 \pm 0.7	0.3 \pm 0.3	4.8 \pm 0.8

886 ¹EE = Ether extract. NFC = 100 – (CP + NDF + EE + ash). ROM = Residual OM = NFC – Starch.887 ²WF Comidão (Cargill Agrícola SA, Uberlândia, Brazil).888 ³GoldenMill (Cargill Agrícola SA, Castro, Brazil).889 ⁴FlexyPro (SJC Bioenergia, Quirinópolis, Brazil).

890 Table 2. Corn silage (CS) and corn ear fibrous coproduct (CO) particle size distribution on an
 891 as-fed and DM basis and the concentrations of DM and NDF on fractions of the Penn State
 892 Particle Separator

Forage	CS	CO
		% of as-fed ¹
As-fed > 19 mm	24.9 ± 7.36	33.1 ± 7.95
As-fed 8-19 mm	59.8 ± 13.74	42.2 ± 9.18
As-fed < 8 mm	15.3 ± 3.94	24.7 ± 6.63
		% of DM ¹
DM > 19 mm	24.0 ± 5.93	29.9 ± 3.96
DM 8-19 mm	58.7 ± 8.69	42.2 ± 4.20
DM < 8 mm	17.3 ± 3.77	25.9 ± 4.29
NDF > 19 mm	15.5 ± 3.23	11.0 ± 0.88
NDF 8-19 mm	26.7 ± 3.65	9.9 ± 1.21
NDF < 8 mm	7.5 ± 1.85	5.5 ± 2.58
		% of as-fed ¹
DM of retained > 19 mm	26.1 ± 2.18	42.6 ± 2.79
DM of retained 8-19 mm	26.8 ± 2.69	49.4 ± 2.22
DM of retained < 8 mm	30.5 ± 1.73	49.4 ± 2.05
		% of DM ²
NDF of retained > 19 mm	64.9 ± 1.32	37.0 ± 3.58
NDF of retained 8-19 mm	46.0 ± 6.63	22.4 ± 0.95
NDF of retained < 8 mm	40.3 ± 4.64	16.2 ± 1.27

893 ¹Mean ± SD of 12 samples of each ingredient obtained throughout the experiment.

894 ²Mean ± SD of 4 composite samples from each experimental period

895 Table 3. Yeast, spore forming aerobic bacteria, filamentous fungi, and pH of four bales of corn ear
 896 fibrous coproduct and wet corn gluten feed during the feed-out period

Feed Day of utilization	Corn ear fibrous coproduct		
	Day 1	Day 4	
Yeast, log ₁₀ cfu/g	2.26 ± 1.70	< 2.0	
Spore forming aerobic bacteria, log ₁₀ cfu/g	4.58 ± 1.03	4.51 ± 0.43	
Filamentous fungi, log ₁₀ cfu/g	2.26 ± 0.41	2.25 ± 0.41	
pH	4.15 ± 0.04	4.18 ± 0.06	

Feed Day of utilization	Wet corn gluten feed		
	Day 1	Day 4	Day 7
Yeast, log ₁₀ cfu/g	5.00 ± 1.83	6.05 ± 0.67	6.46 ± 0.35
Spore forming aerobic bacteria, log ₁₀ cfu/g	4.48 ± 0.43	3.78 ± 0.59	4.03 ± 0.12
Filamentous fungi, log ₁₀ cfu/g	ND ¹	ND	ND
pH	3.94 ± 0.18	3.97 ± 0.18	3.99 ± 0.16

897 ¹ND = not detected.

898 Table 4. Ingredient composition of the offered TMR and nutrient composition of the consumed
 899 TMR (offered – orts) on treatments in which corn silage (CS) was replaced by corn ear fibrous
 900 coproduct (CO) and wet corn gluten feed (GF) was replaced by citrus pulp plus corn distillers
 901 dried grains (CD)

Forage Concentrate	CS		CO	
	GF	CD	GF	CD
	% of DM			
Whole plant corn silage	34.9	34.2	21.6	21.1
Corn ear fibrous coproduct ¹	4.7	4.6	19.0	18.5
Wet corn gluten feed ²	19.5	4.6	19.6	4.6
Corn distillers dried grains ³		6.3		3.6
Citrus pulp pellets		10.7		12.4
Soybean meal	9.6	9.4	9.3	9.5
Ensiled corn grain	15.2	14.9	15.3	14.9
Whole cottonseeds	10.9	10.7	11.0	10.7
Limestone	0.5		0.5	
Premix ⁴	4.7	4.6	4.7	4.7
CP	17.5	17.2	17.4	17.2
Corn gluten feed CP	5.0	1.2	5.0	1.2
FlexyPro + citrus pulp CP		3.8		3.7
NDF	35.4	32.8	32.7	29.8
Forage NDF (corn silage + ear coproduct)	19.9	19.5	17.1	16.7
Corn silage NDF	17.6	17.4	10.9	10.7
Corn gluten feed NDF	7.3	1.7	7.4	1.7
Ether extract	4.5	5.0	4.5	4.8
Ash	7.1	6.5	7.2	6.7
NFC ⁵	35.5	38.5	38.2	41.5
Starch plus free glucose	22.3	21.0	23.5	22.0
Corn silage starch plus free glucose	7.0	6.9	4.4	4.2
ROM ⁶	13.2	17.5	14.7	19.5
	% of as-fed			
DM	42.5	46.2	46.3	50.6

902 ¹WF Comidão (Cargill Agrícola SA, Uberlândia, Brazil).

903 ²GoldenMill (Cargill Agrícola SA, Castro, Brazil).

904 ³FlexyPro (SJC Bioenergia, Quirinópolis, Brazil).

905 ⁴Composition: 17% limestone, 23% sodium bicarbonate, 5% magnesium oxide, 5% NaCl, 1% Azomite, 2% urucum
 906 (Bixa Orellana), 2% autolysed yeast, 30% hydrogenated fat (100% stearic acid, Cargill Agrícola SA, Ponta Grossa,
 907 Brazil), and 15% minerals and vitamins (23.6% Ca, 16.9% P, 1.9% Mg, 2.2% S, 92 mg/kg Co, 1,231 mg/kg Cu,
 908 3,077 mg/kg Mn, 7323 mg/kg Zn, 50 mg/kg Se, 123 mg/kg I, 615,385 IU/kg Vit. A, 135,385 IU/kg Vit. D; 3815 IU/kg
 909 Vit E).

910 ⁵NFC = 100 – (CP + NDF + ether extract + ash).

911 ⁶Residual OM = NFC – Starch.

912 Table 5. Diet particle size distribution on an as-fed and DM basis and NDF and physically
 913 effective NDF ($peNDF_{>8}$) on treatments in which corn silage (CS) was replaced by corn ear
 914 fibrous coproduct (CO) and wet corn gluten feed (GF) was replaced by citrus pulp plus corn
 915 distillers dried grains (CD)

Forage Concentrate	CS		CO	
	GF	CD	GF	CD
	% of as-fed ¹			
As-fed > 19 mm	13.7 ± 3.77	16.8 ± 4.93	15.4 ± 3.60	18.3 ± 4.20
As-fed 8-19 mm	49.8 ± 4.71	45.3 ± 4.85	47.7 ± 2.96	42.2 ± 3.53
As-fed < 8 mm	36.5 ± 3.03	37.9 ± 2.96	36.9 ± 2.52	39.5 ± 2.56
	% of DM ²			
DM > 19 mm	9.8 ± 1.60	9.6 ± 1.56	10.9 ± 1.29	10.7 ± 1.26
DM 8-19 mm	33.7 ± 3.40	33.0 ± 3.33	32.3 ± 2.17	31.6 ± 2.13
DM < 8 mm	56.5 ± 1.97	57.4 ± 1.89	56.8 ± 0.96	57.7 ± 0.92
NDF > 19 mm ³	5.9 ± 0.88	5.8 ± 0.86	5.5 ± 0.53	5.3 ± 0.51
NDF 8-19 mm ³	16.0 ± 1.11	15.7 ± 1.09	13.9 ± 0.73	13.6 ± 3.60
NDF < 8 mm ³	13.5 ± 1.33	11.3 ± 0.81	13.3 ± 1.12	10.9 ± 2.22
$peNDF_{>8\text{ mm}}^3$	22.0 ± 1.27	21.5 ± 1.22	19.4 ± 0.69	19.0 ± 0.67
$peNDF_{>8\text{ mm}}^4$	15.4 ± 0.97	14.0 ± 0.70	14.1 ± 0.69	12.6 ± 0.45
	% of as-fed			
DM of retained > 19 mm	27.7 ± 1.69	27.7 ± 1.69	32.9 ± 2.45	32.9 ± 2.45
DM of retained 8-19 mm	36.2 ± 1.88	36.2 ± 1.88	42.1 ± 1.49	42.1 ± 1.49
DM of retained < 8 mm	53.3 ± 0.67	63.7 ± 1.30	54.1 ± 0.43	64.9 ± 0.76
	% of DM			
NDF of retained > 19 mm	60.7 ± 1.27	60.7 ± 1.27	50.1 ± 1.71	50.1 ± 1.71
NDF of retained 8-19 mm	47.8 ± 4.50	47.8 ± 4.50	43.2 ± 2.67	43.2 ± 2.67
NDF of retained < 8 mm	21.2 ± 1.66	17.1 ± 0.51	20.5 ± 1.62	16.0 ± 0.54

916 ¹Mean ± SD of 60 samples along the experiment.

917 ²Mean ± SD of 4 composite samples from periods.

918 ³Calculated from feed analysis and diet composition assuming that only whole plant corn silage, corn ear fibrous
 919 coproduct, and whole cottonseeds contribute to NDF > 8 mm.

920 ⁴Diet NDF × % DM > 8 mm (Zebeli et al., 2012).

921 Table 6. Intake of DM and digestible OM (DOMI), lactation performance, MUN, N utilization efficiency
 922 (NUE), linear SCC (Ln SCC), feed efficiencies, and BW and BCS on treatments in which corn silage
 923 (CS) was replaced by corn ear fibrous coproduct (CO) and wet corn gluten feed (GF) was replaced
 924 by citrus pulp plus corn distillers dried grains (CD)

Forage Concentrate	CS		CO		SEM	P-value ¹		
	GF	CD	GF	CD		F	C	F × C
	kg/d							
DMI	19.9	20.5	20.8	21.5	0.75	0.01	0.08	0.92
DOMI	12.7	13.3	13.3	15.2	0.57	< 0.01	< 0.01	0.17
Milk	29.4	30.7	29.7	30.8	0.79	0.54	< 0.01	0.73
4% FCM	26.6 ^b	28.5 ^a	27.0 ^b	27.4 ^b	0.75	0.24	< 0.01	0.02
ECM	27.8 ^c	30.0 ^a	28.4 ^{bc}	29.0 ^b	0.87	0.51	< 0.01	0.03
Fat	0.981 ^b	1.062 ^a	0.986 ^b	0.994 ^b	0.0343	0.07	0.01	0.04
Protein	0.925	0.991	0.948	0.988	0.0326	0.40	< 0.01	0.29
Lactose	1.346 ^b	1.440 ^a	1.403 ^a	1.424 ^a	0.0477	0.28	< 0.01	0.06
Solids	3.517 ^c	3.771 ^a	3.609 ^{bc}	3.686 ^{ab}	0.1091	0.93	< 0.01	0.03
	%							
Fat	3.33	3.40	3.25	3.23	0.104	0.03	0.65	0.46
Protein	3.11	3.15	3.09	3.18	0.058	0.85	0.02	0.27
Lactose	4.52	4.55	4.57	4.57	0.061	0.24	0.62	0.54
Solids	11.85	11.98	11.81	11.87	0.168	0.28	0.21	0.68
MUN, mg/dL	21.4	20.9	22.2	20.7	0.81	0.63	0.10	0.43
NUE, ² %	26.0	26.8	25.5	26.7	0.73	0.60	0.10	0.80
Ln SCC, ³ 0 to 9	2.19	2.24	2.61	2.66	0.418	0.15	0.86	0.99
Milk/DMI	1.49	1.51	1.45	1.46	0.038	0.06	0.66	0.82
4% FCM/DMI	1.33	1.38	1.30	1.29	0.033	0.05	0.46	0.29
ECM/DMI	1.39	1.45	1.37	1.37	0.035	0.08	0.24	0.32
ECM/DOMI	2.17 ^{ab}	2.28 ^a	2.22 ^a	1.95 ^b	0.090	0.09	0.32	0.02
BW, kg	607	606	605	606	18.1	0.40	0.98	0.63
BCS, 1 to 5	3.13	3.13	3.13	3.18	0.100	0.34	0.27	0.28

925 ¹F = forage; C = concentrate; F × C = interaction between F and C. ^{a,b,c}Means in a row with differing superscripts differ at *P*
 926 ≤ 0.05 by pair-wise t-test.

927 ²NUE = (milk CP content/6.38)/N intake.

928 ³Equivalency of the Ln SCC: 2.19 = 57,000 cells/mL; 2.24 = 59,000 cells/mL; 2.61 = 76,500 cells/mL; 2.66 = 79,100 cells/mL.

Table 7. Intake of physically effective fiber ($peNDF_{>8}$), forage NDF, and total NDF, chewing behavior, proportion of intake in periods of the day, and feed particles sorting behavior on treatments in which corn silage (CS) was replaced by corn ear fibrous coproduct (CO) and wet corn gluten feed (GF) was replaced by citrus pulp plus corn distillers dried grains (CD)

Forage Concentrate	CS		CO		SEM	<i>P</i> -value ¹		
	GF	CD	GF	CD		F	C	F × C
Intake of $peNDF_{>8}$, ² kg/d	4.4	4.4	4.0	4.1	0.15	< 0.01	0.52	0.96
Intake of $peNDF_{>8}$, ² % of BW	0.72	0.73	0.68	0.68	0.026	< 0.01	0.62	0.71
Intake of forage NDF, % of BW	0.66	0.66	0.59	0.60	0.023	< 0.01	0.57	0.81
Intake of NDF, % of BW	1.18	1.12	1.14	1.07	0.042	0.04	< 0.01	0.56
Meals/d	8.6	8.3	8.9	8.5	0.29	0.23	0.05	0.82
Meal size, kg	2.50	2.71	2.52	2.74	0.158	0.79	0.01	0.96
Meal duration, min	34.1	37.2	32.3	32.8	1.36	< 0.01	0.04	0.15
Largest meal size, kg	4.44	5.09	4.41	4.77	0.254	0.39	0.02	0.47
Largest meal duration, min	61.9	72.0	58.0	59.9	4.13	< 0.01	0.04	0.15
Largest meal moment, ³ min	479	459	485	470	58.8	0.83	0.67	0.95
First meal duration, min	47.4 ^b	56.8 ^a	43.9 ^b	41.7 ^b	3.89	< 0.01	0.08	< 0.01
		min/d						
Eating	291 ^{ab}	303 ^a	288 ^{bc}	276 ^c	11.7	< 0.01	0.97	0.02
Rumination	497	472	479	437	13.2	< 0.01	< 0.01	0.31
Chewing ⁴	789 ^a	775 ^a	767 ^a	714 ^b	18.5	< 0.01	< 0.01	0.06
		min/kg of DMI						
Eating	14.6	14.8	13.8	13.2	0.94	< 0.01	0.44	0.15
Rumination	24.8	22.8	22.8	20.7	1.15	< 0.01	< 0.01	0.89
Chewing	39.3	37.6	36.7	33.9	1.95	< 0.01	< 0.01	0.52
		min/kg of $peNDF_{>8}$ intake						
Eating	69 ^b	72 ^{ab}	75 ^a	70 ^b	4.6	0.15	0.46	0.02
Rumination	117	110	123	110	5.5	0.26	< 0.01	0.24
Chewing	186 ^b	182 ^b	198 ^a	180 ^b	9.4	0.14	< 0.01	0.06
		% of daily intake						
0700-1200 h	36.2 ^b	39.6 ^a	38.0 ^{ab}	37.9 ^{ab}	1.43	0.96	0.16	0.10
1200-1900 h	40.2	41.0	39.5	39.2	1.12	0.24	0.78	0.59
1900-0700 h	23.6 ^a	19.4 ^b	22.5 ^a	22.9 ^a	1.21	0.26	0.08	0.03
		Observed/Predicted, ⁵ %						
0700-1200 h								
> 19 mm ⁶	80	82	79	94	6.1	0.35	0.14	0.31
8-19 mm	103	104	101	102	1.6	0.24	0.64	0.78
< 8 mm	100	99	105	99	2.2	0.27	0.13	0.28
1200-1900 h								
> 19 mm	88	82	85	86	4.6	0.90	0.55	0.31
8-19 mm	98	99	96	99	1.1	0.49	0.10	0.25
< 8 mm	107 ^{ab}	109 ^a	110 ^a	105 ^b	2.2	0.79	0.54	< 0.01
1900-0700 h								
> 19 mm	80	92	100	94	7.0	0.10	0.65	0.19
8-19 mm	100	100	98	99	1.4	0.22	0.69	0.48
< 8 mm	109 ^{xy}	105 ^{xy}	102 ^y	110 ^x	3.3	0.76	0.60	0.07

933
934
935
936
937
938
939
940

¹F = forage; C = concentrate; F × C = interaction between F and C. ^{a,b,c}Means in a row with differing superscripts differ at $P \leq 0.05$ by pair-wise t-test. ^{x,y}Means in a row with differing superscripts differ at $P \leq 0.10$ by pair-wise t-test.

²_{pe}NDF_{>8} calculated from feed analysis and diet composition assuming that only corn silage, corn ear fibrous coproduct, and whole cottonseeds contribute to NDF > 8 mm.

³Minutes from first daily feeding at 0700 h.

⁴Chewing: eating + rumination.

⁵> 100 = preferential intake; < 100 = refusal; 100 = no sorting.

⁶Screens of the Penn State Particle Separator.

941 Table 8. Urine volume, total tract apparent digestibilities of DM, OM, NDF, non-NDF OM (nNDF
 942 OM), and starch, allantoin, allantoin/digestible OM intake (DOMI), and plasma urea-N (PUN) on
 943 treatments in which corn silage (CS) was replaced by corn ear fibrous coproduct (CO) and wet
 944 corn gluten feed (GF) was replaced by citrus pulp plus corn distillers dried grains (CD)

Forage Concentrate	CS		CO		SEM	<i>P</i> -value ¹		
	GF	CD	GF	CD		F	C	F × C
Urine, L/d	28.7	27.1	34.3	32.4	2.39	< 0.01	0.33	0.94
	% of intake							
D DM	67.8 ^{bc}	69.0 ^{ab}	66.3 ^c	71.0 ^a	1.01	0.81	< 0.01	0.05
D OM	70.2 ^{bc}	71.3 ^{ab}	68.8 ^c	73.1 ^a	0.97	0.86	< 0.01	0.05
D NDF	51.0 ^a	51.2 ^a	46.0 ^b	51.1 ^a	1.59	0.07	0.06	0.08
D nNDF OM	81.8 ^b	82.2 ^{ab}	81.0 ^b	86.5 ^a	0.70	0.70	0.02	0.08
D starch	98.0	96.7	96.4	95.1	0.40	< 0.01	< 0.01	0.96
Fecal starch, % of DM	1.4	2.3	2.5	3.7	0.25	< 0.01	< 0.01	0.52
Digestible starch intake, kg/d	4.2	4.0	4.5	4.4	0.16	< 0.01	0.10	0.64
Digestible NDF intake, kg/d	3.5	3.3	3.1	3.2	0.17	0.07	0.88	0.12
Allantoin, mmol/d	347	382	407	413	33.8	0.13	0.49	0.63
Allantoin/DOMI, mmol/kg	28.5	28.0	32.9	28.4	3.00	0.37	0.34	0.45
PUN, ² mg/dL	22.5	22.1	24.2	22.1	0.77	0.12	0.03	0.12

945 ¹F = forage; C = concentrate; F × C = interaction between F and C. ^{a,b,c}Means in a row with differing superscripts differ
 946 at *P* ≤ 0.05 by pair-wise t-test.

947 ²Samples obtained at 0 and 2 h relative to the end of morning (immediately before feeding) and afternoon milkings. 4
 948 x/d. *P* < 0.01 for time (T) of sampling, *P* = 0.85 for F × T, *P* = 0.09 for C × T, and *P* = 0.18 for F × C × T.

949 Table 9. Total mixed ration aerobic stability¹, moment of highest temperature, highest and mean temperature during aerobic exposure for 24h on-farm²
 950 or for 48h in the laboratory³, surface and internal temperature at the feed bunk, and pH. Diets in which corn silage (CS) was replaced by corn ear fibrous
 951 coproduct (CO) and wet corn gluten feed (GF) was replaced by citrus pulp plus corn distillers dried grains (CD)

Forage Concentrate	CS		CO		SEM	P-value ⁴		
	GF	CD	GF	CD		F	C	F × C
Aerobic stability	Min							
On-farm	976	923	1062	1143	57.4	0.01	0.81	0.27
Laboratory	1260 ^c	2025 ^{ab}	2205 ^a	1845 ^b	70.9	0.02	0.08	0.01
Moment of highest temperature								
On-farm	472	491	522	510	31.6	0.28	0.91	0.62
Laboratory	2850	2820	2850	2850	17.3	0.50	0.50	0.50
Highest temperature	°C							
On-farm	25.3	25.1	25.0	24.7	0.24	0.17	0.34	0.92
Laboratory 24h	28.1 ^a	23.8 ^c	23.9 ^c	25.2 ^b	0.27	0.02	0.02	< 0.01
Laboratory 48h	44.2 ^a	35.5 ^{bc}	33.8 ^c	37.1 ^b	0.62	0.01	0.03	< 0.01
Mean temperature								
On-farm	23.7	23.5	23.4	23.1	0.17	0.03	0.18	0.79
Laboratory 0-24 h	24.5 ^a	22.7 ^c	23.0 ^c	23.5 ^b	0.12	0.08	0.02	< 0.01
Laboratory 24-48 h	36.0 ^a	29.3 ^{bc}	27.6 ^c	32.6 ^{ab}	0.91	0.08	0.46	0.01
Laboratory 0-48 h	30.2 ^a	26.0 ^b	25.2 ^b	28.0 ^{ab}	0.51	0.08	0.28	0.01
Temperature at feed bunk 7h, 12h, 19h ⁵								
Surface	21.8	21.8	21.6	21.8	0.08	0.10	0.04	0.23
Internal	24.4	24.4	24.3	24.4	0.12	0.76	0.59	0.38
pH 7h, 12h, 19h, and orts at 5h ⁵	5.00	5.06	5.04	5.10	0.010	< 0.01	< 0.01	0.77

952 ¹Time (min) for the temperature of the TMR to reach 2°C above the environment temperature.

953 ²On-farm: TMR temperature for 24 h at 30-min intervals during 7 days of each experimental period inside the barn. Mean ± SD of environment temperature: 23.3 ± 3.31°C.

954 ³Laboratory: TMR temperature for 48 h at 30-min intervals in a room with controlled temperature (24.9 ± 1.17°C).

955 ⁴F = forage; C = concentrate; F × C = interaction between F and C. ^{a,b,c}Means in a row with differing superscripts differ at $P \leq 0.05$ by pair-wise t-test.

956 ⁵Mean of 3 consecutive days per cow per time per period. $P < 0.01$ for time (T) and $P \geq 0.20$ for interactions (F × C, F × T, C × T, F × C × T), except $P < 0.01$ for F × T for pH, and $P <$
 957 0.01 for F × C × T for internal temperature.

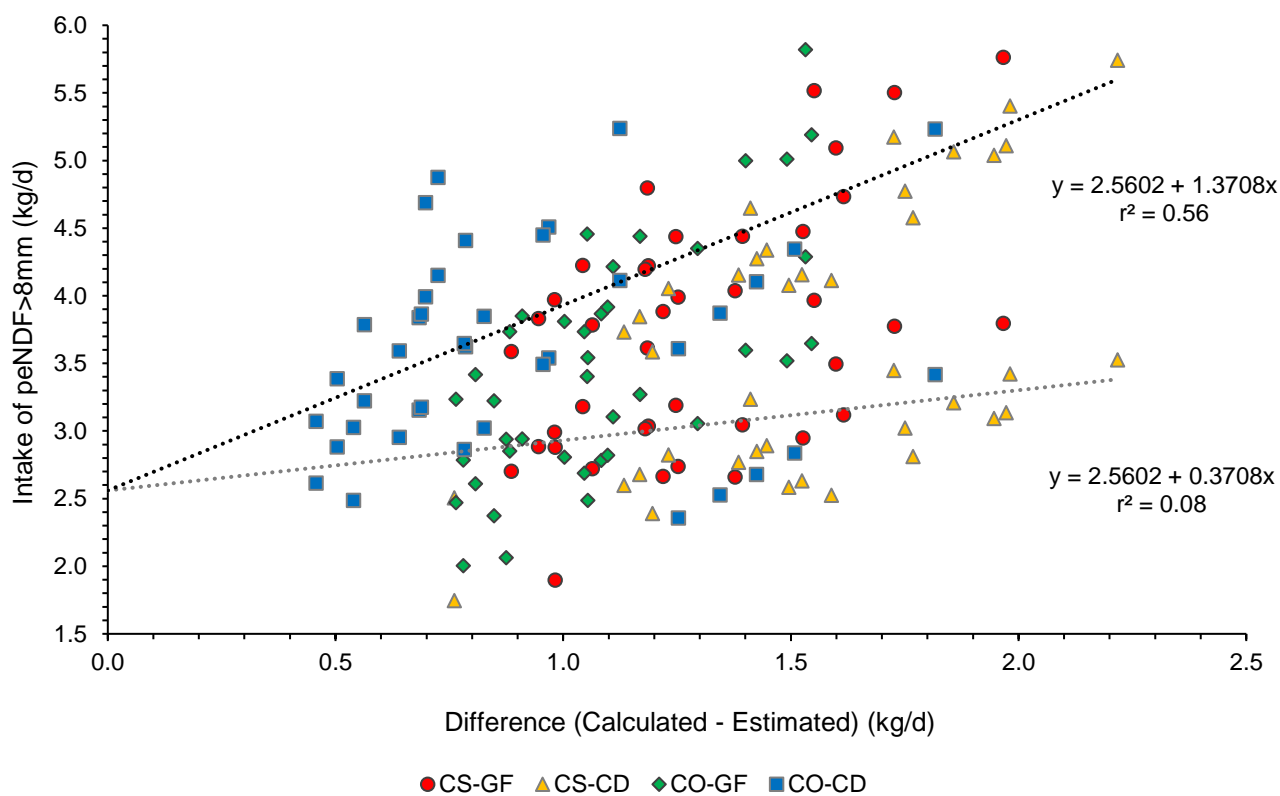
958 Table 10. Milk income, diet cost, and income over feed cost on treatments in which corn silage (CS)
 959 was replaced by corn ear fibrous coproduct (CO) and wet corn gluten feed (GF) was replaced by
 960 citrus pulp plus corn distillers dried grains (CD)

Forage Concentrate	CS		CO		SEM	P-value ¹		
	GF	CD	GF	CD		F	C	F × C
Milk value, US\$/kg	0.441	0.446	0.437	0.441	0.0047	0.12	0.09	0.74
Milk income, US\$/cow/d	13.08 ^c	14.04 ^a	13.34 ^{bc}	13.73 ^{ab}	0.382	0.89	< 0.01	0.08
Diet cost, ² US\$/kg of DM	0.363	0.385	0.381	0.403				
Feed cost, ² US\$/cow/d	7.32	7.97	8.07	8.57	0.310	< 0.01	< 0.01	0.72
Income over feed cost, ² US\$/cow/d	5.76	6.07	5.26	5.15	0.290	< 0.01	0.61	0.28
Diet cost, ³ US\$/kg of DM	0.415	0.437	0.413	0.435				
Feed cost, ³ US\$/cow/d	8.37	9.03	8.76	9.26	0.341	0.12	< 0.01	0.68
Income over feed cost, ³ US\$/cow/d	4.72	5.01	4.57	4.48	0.296	0.10	0.63	0.35

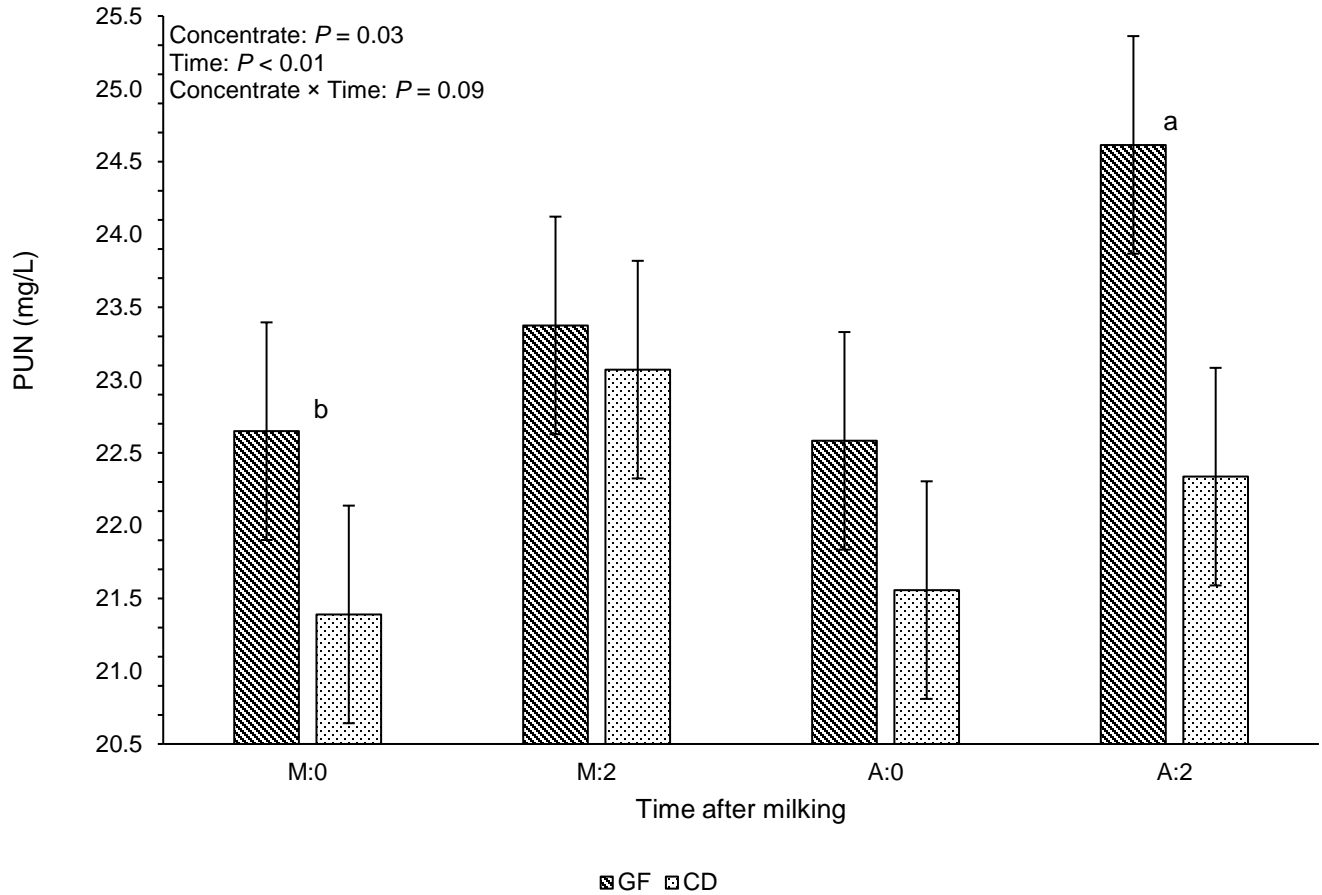
961 ¹F = forage; C = concentrate; F × C = interaction between F and C. ^{a,b,c}Means in a row with differing superscripts differ at P
 962 ≤ 0.05 by pair-wise t-test.

963 ²Whole plant corn silage (27.2% DM) at US\$ 0.04/kg of as-fed.

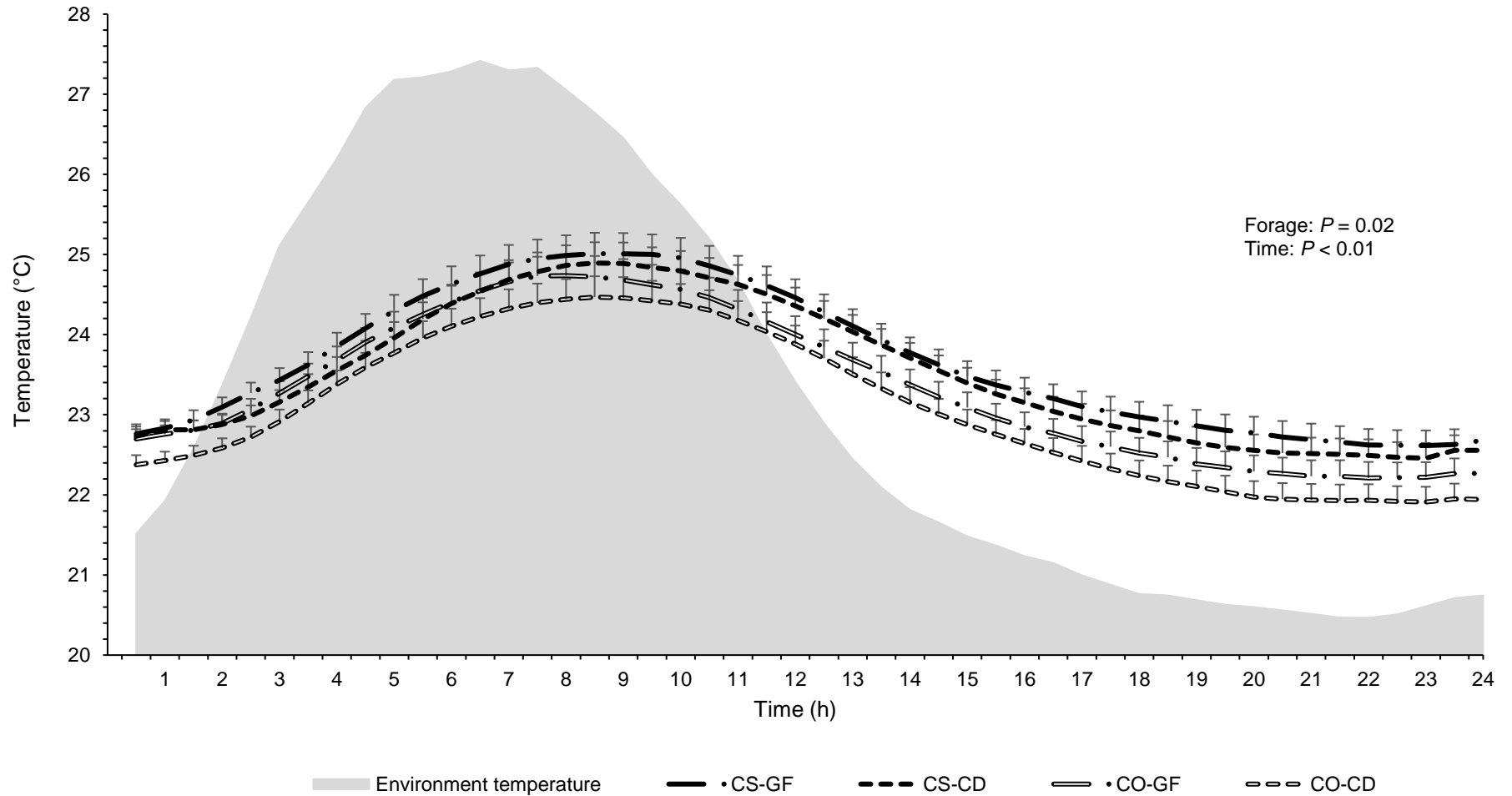
964 ³Whole plant corn silage (27.2% DM) at US\$ 0.08/kg of as-fed.



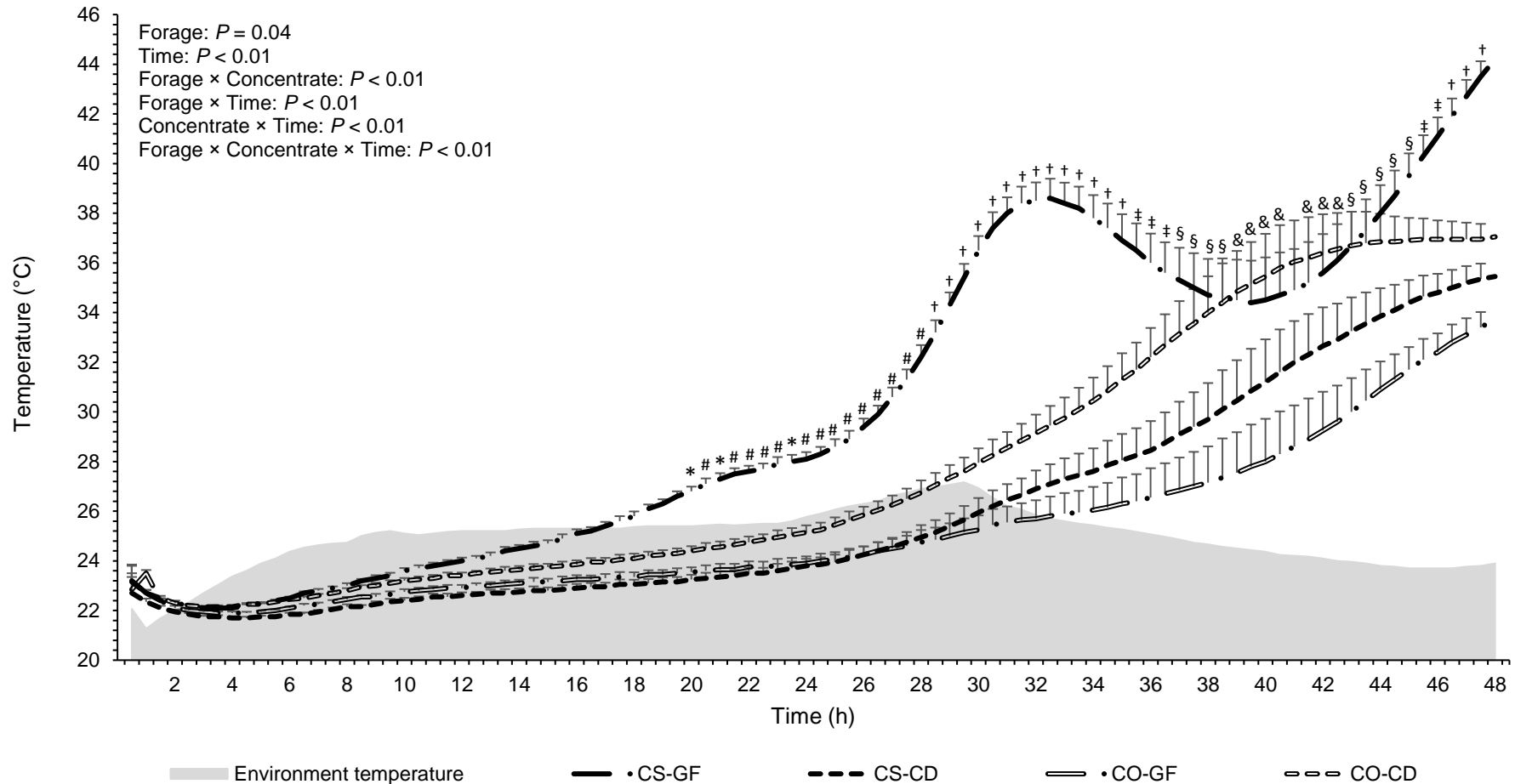
965 Figure 1. Difference between the intake of physically effective fiber ($peNDF_{>8}$) per cow calculated from
 966 feed analysis and diet composition assuming that only whole plant corn silage, corn ear fibrous
 967 coproduct, and whole cottonseeds contribute to NDF > 8 mm (...) or estimated as diet NDF \times % DM
 968 > 8 mm (...). Mean values were 4.22 kg/d for calculated $peNDF_{>8}$, 3.01 kg/d for estimated $peNDF_{>8}$,
 969 and 1.21 kg/d for the difference between measures.



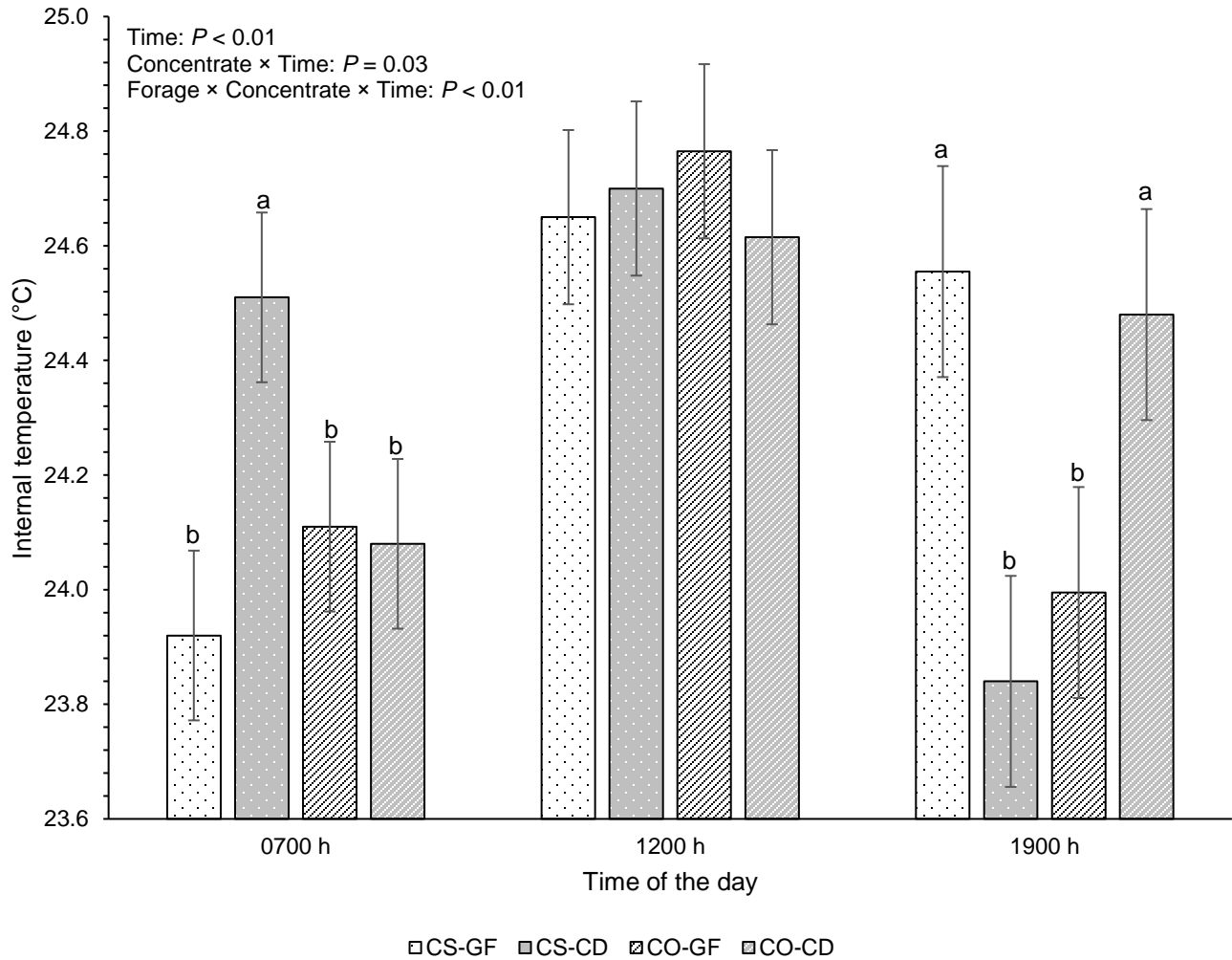
970 Figure 2. Plasma urea nitrogen (PUN) at 0 and 2 h after eating following the morning (M:0 and M:2) and
 971 afternoon (A:0 and A:2) milkings on treatments with wet corn gluten feed (GF) or citrus pulp plus corn
 972 distillers dried grains (CD). $P \leq 0.05$ (a) and $P \leq 0.10$ (b).



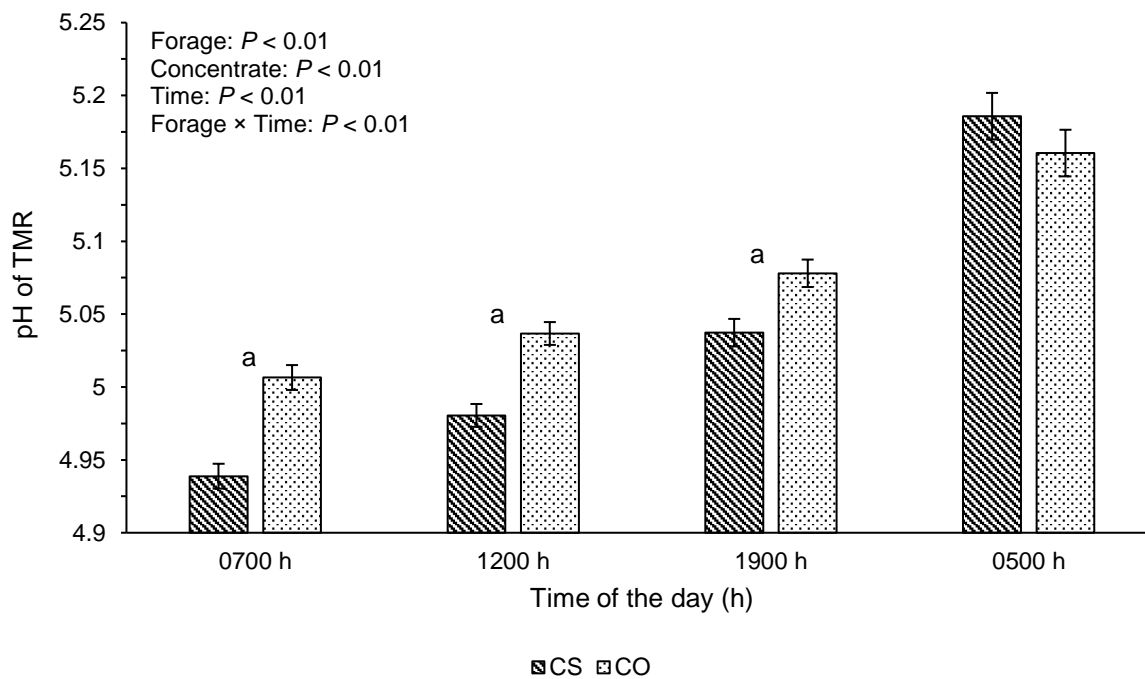
973 Figure 3. Temperature of total mixed rations at 30-min intervals for 24 h on-farm. Effects of forage (whole plant corn silage – “CS” and corn
 974 ear fibrous coproduct – “CO”) and concentrate (wet corn gluten feed – “GF” and citrus pulp and corn distillers dried grains – “CD”). Barn
 975 temperature is gray area. Means \pm SEM.



976 Figure 4. Temperature of total mixed rations at 30-min intervals for 48h in the laboratory. Effects of forage (whole plant corn silage – “CS” and
 977 corn ear fibrous coproduct – “CO”) and concentrate (wet corn gluten feed – “GF” and citrus pulp and corn distillers dried grains – “CD”). Room
 978 temperature is gray area. Means \pm SEM. Within time, the following comparisons were significant ($P \leq 0.05$. Slice option): CS-GF vs. CO-GF,
 979 CS-GF vs. CO-CD, CS-GF vs. CS-CD, and CO-CD vs. CS-CD (*); CS-GF vs. CO-GF, CS-GF vs. CO-CD, CS-GF vs. CS-CD, CO-CD vs. CS-
 980 CD, and CO-CD vs. CO-GF (#); CS-GF vs. CO-GF, CS-GF vs. CO-CD, CS-GF vs. CS-CD, and CO-GF vs. CO-CD (†); CS-GF vs. CO-GF, CS-
 981 GF vs. CS-CD, and CO-GF vs. CO-CD (‡); CS-GF vs. CO-GF and CO-GF vs. CO-CD (§); and CO-GF vs. CO-CD (&).



982 Figure 5. Internal temperature of total mixed rations at 0700 h, 1200 h, and 1900 h at the feed bunk.
 983 Effects of forage (whole plant corn silage – “CS” and corn ear fibrous coproduct – “CO”) and concentrate
 984 (wet corn gluten feed – “GF” and citrus pulp and corn distillers dried grains – “CD”). Means \pm SEM. Within
 985 time: a-b differ at $P \leq 0.05$.



986 Figure 6. The pH of total mixed rations at 0700 h, 1200 h, 1900 h, and orts at 0500 h. Effects of whole
 987 plant corn silage (CS) and corn ear fibrous coproduct (CO). Means \pm SEM. $P \leq 0.05$ (a)