

## EFEITO DOS INOCULANTES ENZIMÁTICOS E MICROBIANOS SOBRE A FERMENTAÇÃO E A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SILAGENS DE MILHO

49

Letícia Lopes da Costa<sup>1\*</sup>, Stela Naetzold Pereira<sup>2</sup>, Ana Luiza Van Caeneghem da Hora<sup>3</sup>,  
Janaína Vargas Teixeira<sup>3</sup>, Larissa Luisa Schumacher<sup>4</sup>, Tiago João Tonin<sup>5</sup>, Júlio Viégas<sup>5</sup>

1,\* – Ma., Universidade Federal de Santa Maria, [leticialopes.zoot@gmail.com](mailto:leticialopes.zoot@gmail.com)

2- Ma., Universidade Federal de Santa Maria

3 – Graduandas do Curso de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria

4 – Graduada no curso de Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria

5 – Dr., Universidade Federal de Santa Maria

Com o objetivo de avaliar o efeito de aditivos microbianos e enzimáticos, sobre as perdas e o valor nutritivo das silagens de milho, foi conduzido o presente estudo, testando silagens sem aditivos, com aditivo acidificante Vantagem® e com aditivo enzimático Rovabio®. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos (controle, Vantagem® e Rovabio®) e quatro repetições por tratamento. O material original apresentava características dentro das recomendações para uma adequada fermentação, como o teor de MS, energia e poder tampão. Não observamos diferenças na composição química das silagens. O FDN não sofreu influência dos aditivos testados, apesar do objetivo dos aditivos enzimáticos em solubilizar parte do FDN e elevar os carboidratos solúveis. Os inoculantes testados no presente estudo não alteraram os padrões fermentativos. A silagem de milho, desde que elaborada dentro de padrões de qualidade dispensa o uso de aditivos.

Palavras-chave: aditivos, ácido lático, celulase, energia, perdas

### INTRODUÇÃO

A silagem da planta inteira do milho é bastante utilizada na alimentação animal por ser de alta qualidade nutricional, ter satisfatória produtividade de matéria seca (MS) e produção de energia por unidade de área, além de boa palatabilidade (KOMLEH et al., 2011). E os aditivos tem sido utilizado em silagens com o intuito de prevenir ou diminuir o crescimento de microorganismos indesejáveis, como os fungos e bactérias do gênero *Clostridium*, melhorando assim, o processo fermentativo da silagem (QUEIROZ et al., 2013).

Na literatura diversos estudos têm avaliado os efeitos do uso de aditivos em silagens, no entanto as respostas não são consistentes. Além disso, poucos relatos têm avaliado o valor nutritivo e as perdas das silagens inoculados com *Bacillus* e leveduras. Desta forma, o objetivo do presente trabalho, foi avaliar os efeitos da inoculação dos aditivos microbiológico a base de *Bacillus* e complexos enzimáticos sobre o valor nutritivo e as perdas das silagens de milho.

50

## **METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido pelo Grupo de Estudos em Aditivos na Produção Animal (GEAPA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), no período de outubro de 2013 a abril de 2014. Foi utilizado um híbrido de milho comercial 'Agroceres AG 8025'. A colheita das plantas para ensilagem foi realizada quando o grão apresentava 2/3 da linha do leite e o teor de matéria seca era de 36,62 %.

As plantas foram cortadas manualmente a uma altura média de 10 cm do solo e em seguida picadas em triturador regulado para diâmetro médio de partícula de 2 cm. Para cada um dos silos foi estabelecido um dos seguintes tratamentos: T1: controle com forragem da planta de milho picada sem inclusão de aditivos; T2: forragem da planta de milho picada mais aditivo acidificante Vantagem®, diluindo 2,7 ml do produto comercial em 10 ml de água e aplicando na proporção de 1l/t de matéria verde a ser ensilada; T3: forragem da planta de milho picada mais complexo enzimático Rovabio®, na proporção de 0,18 ml de enzima em 10 ml de água destilada por kg de matéria verde a ser ensilada.

O material foi compactado e hermeticamente fechado em micro silos com 4 sacos plásticos para proteção contra a entrada de ar e luminosidade. A sequência dos sacos plásticos respeitou a seguinte ordem: o primeiro saco com furos no fundo tinha por finalidade a saída dos efluentes e acomodação do material ensilado; o segundo saco continha areia lavada e seca em estufa para absorção dos efluentes; o terceiro saco para melhor vedação dos demais; o

quarto saco, escuro para proteção contra luminosidade. Os silos experimentais continham 8 kg de silagem e 2 kg de areia. Para avaliação do poder tampão (PT), utilizou-se metodologia descrita por Playne e McDonald (1966). A densidade das silagens foi determinada através do cálculo do volume ocupado pela massa de forragem dentro de cada silo.

A abertura dos silos foi realizada após 80 dias de fermentação, para determinar as perdas por efluentes, gases e recuperação de matéria seca (RMS) foi utilizado o método de Siqueira et al., (2007). Em cada unidade experimental, uma amostra de silagem foi retirada para determinação do pH conforme Silva e Queiroz (2002), e outra para a extração por prensagem do líquido da silagem utilizado para análise do teor de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) pelo método de colorimétrica segundo Weatherburn (1967).

Outra amostra foi levada à estufa com circulação forçada de ar com temperatura média de 55°C até atingir peso constante, sendo pesada para determinação da matéria parcialmente seca (MPS), e moídas, posteriormente, em moinho do tipo *Willey* com peneira de 1mm (análises químicas) e 2mm (estimativa de digestibilidade). Foram avaliadas a matéria seca total (MST) em estufa a 105°C durante um período mínimo de 8 horas, a matéria mineral (MM) através de incineração em mufla a 550°C durante 4 horas. A estimativa de proteína bruta (PB) foi conduzida pelo método micro Kjeldhal, segundo AOAC (1995). Para a determinação da fibra em detergente neutro (FDN) utilizou-se a técnica de Senger et al., (2008). O conteúdo de fibra em detergente ácido (FDA) e o teor de lignina (LDA), foram estimados de acordo com a metodologia de Van Soest et al., (1991). Os teores de hemicelulose (HEM) foi estimada por diferença entre os teores FDN e FDA.

O ensaio de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), foi conduzido segundo metodologia de Goering e Van Soest (1970), posteriormente foi coletado inóculo de bovinos fistulados, os quais foram adaptados com silagem. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados pela equação (NRC, 2001).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 3 tratamentos e 4 repetições por tratamento. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e posteriormente a análise de comparação múltipla de médias pelo teste de Tukey através do procedimento GLM (proc GLM). A significância foi considerada como  $P \leq 0,05$  (95% de probabilidade), sendo todos os testes realizados com a utilização do programa estatístico SAS, versão SAS® University Edition Study.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do perfil fermentativo das silagens de milho (Tabela 1) foi observado que o uso de aditivos enzimático e microbiológico não alteraram ( $P > 0,05$ ) os parâmetros estudados. Os teores médios de MS, N-amoniaco e pH situam-se dentro dos padrões almejados para silagens de boa qualidade conforme relatam Kung Jr. et al., (2018).

Tabela 1: Características e perdas nutricionais de silagens de milho submetidas à inoculação com diferentes aditivos

Diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey. \*Em relação ao nitrogênio total. \*\*Poder tampão em (eq.mg/HCl/100g MS).

Variáveis	Tratamentos			CV	P
	Controle	Acidificante Vantagem®	Rovabio®		
Matéria Seca (%)	32,27	31,87	32,30	0,96	0,55
N-amoniaco*	3,37	3,06	3,22	27,72	0,89
pH (%)	3,87	3,82	3,85	1,30	0,65
Recuperação de MS (%)	84,40	81,60	81,14	2,45	0,11
Perdas Efluentes (kg/t MV)	11,68	14,07	13,77	14,65	0,23
Perdas Gases (%)	3,13	3,69	3,46	5,54	0,41
Densidade (kg/m <sup>3</sup> )	707,01	675,61	713,08	6,09	0,06
Poder tampão	5,80	5,12	5,21	6,85	0,06

O N-amoniaco está associado à qualidade fermentativa da silagem as concentrações devem se manter entre 11 a 12% do nitrogênio total em silagens bem conservadas (MONTEIRO et al., 2011). Já para valores de pH estabelecidos por McDonald et al., (1991) em que variam de 3,8 a 4,2, são classificadas silagens de boa qualidade.

As perdas decorrentes do processo fermentativo não foram reduzidas ( $P > 0,05$ ) pelos aditivos testados. Basso et al., (2012) estudando silagem de milho inoculado com diferentes doses de *Bacillus*, também não observaram efeitos significativos nas perdas fermentativas.

O valor médio de  $698 \text{ kg/m}^3$  foi observado para a densidade ( $P > 0,05$ ) nas silagens com ou sem o uso de aditivos. Borreani et al., (2018), citaram que em silagem de milho com densidades superiores a  $705 \text{ kg/m}^3$  são aceitos, sem que ocorram perdas excessivas, permitindo maior conservação dos nutrientes, devido à menor quantidade de oxigênio presente no início da fermentação.

O poder tampão observado foi de 5,38 mg HCl/100g MS, uma das justificativas para o baixo poder tampão é o teor de matéria seca no momento do corte, pelo fato que forragem com alto teor de umidade apresenta maior disponibilidade de íons inorgânico (Ca, K, Na), reduzindo assim as condições para atuação das bactérias promotoras de ácido lático. Esses resultados corroboram com o observado por Meinerz et al., (2011), em que há uma alta correlação dos teores de matéria seca ( $r = 0,91$ ;  $P < 0,0001$ ) e poder tampão do material ensilado.

A composição química da silagem (Tabela 2) não sofreu influência ( $P > 0,05$ ) dos inoculantes microbiológicos e enzimáticos testados. Resultados similares foram obtidos por Silva et al., (2010) estudando os efeitos do inoculante bacteriano enzimático na silagem de grão úmido de milho.

Tabela 2: Características da composição química da silagem de milho inoculada com diferentes aditivos

Diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey. NDT: nutrientes digestível total, FDN: fibra em detergente Neutro, FDA: fibra em detergente ácido.

Variáveis (% MS)	Tratamentos			CV	P
	Controle	Acidificante Vantagem®	Rovabio®		
Matéria Mineral	3,84	3,93	3,67	7,83	0,47
Matéria Orgânica	96,16	96,06	96,33	0,31	0,47
FDN	48,63	48,20	44,51	8,59	0,40
FDA	25,75	25,88	24,27	9,84	0,67
Hemicelulose	22,64	20,20	22,20	8,42	0,24
Lignina	1,80	1,91	1,93	13,82	0,79
Proteína Bruta	8,62	8,59	9,00	5,84	0,56
Digestibilidade	66,44	74,79	71,83	14,53	0,53
NDT	63,91	64,67	69,11	8,43	0,46

Quanto à ausência de efeito dos inoculantes testados na silagem de milho, a literatura relata que o uso dos aditivos normalmente não é necessário em silagem de milho desde que o teor de matéria seca esteja adequado conforme o NRC (2001), como no caso do presente estudo. É relevante destacar que embora no presente experimento não tenha havido diferenças entre os tratamentos, há a possibilidade ainda de que esses aditivos sejam testados em outros materiais com menores teores de MS e carboidratos solúveis e apresentem resultados significativos.

## CONCLUSÃO

Os inoculantes microbiológicos e enzimáticos testados neste estudo não implicaram em melhorias nos padrões fermentativos e na composição química da silagem. A silagem de milho, desde que confeccionada dentro de padrões de qualidade dispensa o uso de aditivos.

## REFERÊNCIAS

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16th ed, Arlington EUA, Washington, 1025 p.
- BASSO, FC; LARA, EC; ASSIS, FB; et al. 2012. Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(7):1789-1794.
- BORREANI, G; TABACCO, E; SCHIMIDT, RJ; et al. 2018. *Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages*. **Journal Dairy Science**, 101(5):3952–3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>.
- GOERING, HK; VAN SOEST, PJ. 1970. **Forage Fiber Analysis (Apparatus Reagents, Procedures and Some Applications)**, Agriculture Handbook. United States Department of Agriculture, Washington DC, p. 387-598.
- KOMLEH, SHP; KEYHANI, SHA; RAFIEE, P; SEFEEDPARY, P. 2011. Energy use and economic analysis of corn silage production under three cultivated area levels in Tehran province of Iran. **Energy**, 36(5):3335-3341. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2011.03.029>.
- KUNG, JRL; SHAVER, RD; GRANT, RJ; et al. 2018. *Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages*. **Journal of Dairy Science**, 101(5): 4020–4033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>.
- MEINERZ, GR; OLIVIO, CJ; VIÉGAS, J; et al. 2011. Silagem de cereais de inverno submetidos ao manejo de duplo propósito. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(10):2097-2104. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982011001000005>.
- MONTEIRO, IJG; DE ABREU, JG; CABRAL, LS; et al. 2011. Silagem de capim-elefante aditivada com produtos alternativos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, 33(4):347-352.
- MCDONALD, P; HENDERSON, AR; HERON, SJE. 1991. **The biochemistry of silage**, 2.ed. Mallow: Chalcombe Publications, 340 p.
- NRC (Nutrient requirements of dairy cattle). 2001. Red. Ed, Washington, DC: National Academy of Science, 408 p.
- PLAYNE, MJ; MCDONALD, P. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 17:264-268.
- QUEIROZ, OCM; ARRIOLA, KG; DANIEL, JLP; et al. 2013. Effects of chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. **Journal of Dairy Science**, 96(9):5836–5843. doi: 10.3168 / jds.2013-6691.

SENGER, CCD; MÜHLBACH, PRF; SÁNCHEZ, LMB; NETTO, DP; et al. 2008. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feed stuffs. **Animal Feed Science and Technology**, 146(1):169-174.

[doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.12.008](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.12.008)

SAS (Statistical Analysis System). **Statistical analysis system user's guide**. Cary: Statistics Cary SAS Institute, versão study.

56

SILVA, DJ; QUEIROZ, AC. 2002. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3ª ed, Brasil, Editora Universidade Federal de Viçosa, 165 p.

SILVA, JM; CARNAÚBA, JP; SILVA, IO; et al. 2010. Influência de inoculante bacteriano-enzimático sobre a microbiota e qualidade nutricional de silagens de grãos úmidos de milho. **Ciência Animal Brasileira**, 11(1):62-72. DOI: [10.5216/cab.v11i1.4916](https://doi.org/10.5216/cab.v11i1.4916).

SIQUEIRA, GR; REIS, RA; SCHOCKEN-ITURRINO, RP; et al. 2007. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36(6):2000-2009.

VAN SOEST, PJ; ROBERTSON, JB; LEWIS, BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharide in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, 74(10):3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).

WEATHERBURN, MW. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, 39(8):971-974. <https://doi.org/10.1021/ac60252a045>.