

---

## USO DE DIFERENTES INOCULANTES BACTERIANOS ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO PARA SILAGEM DE MILHO

Deivid Junior Fasolo<sup>1</sup>, Acir Felipe Grolli Carvalho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo - Centro Universitário UNISEP – Francisco Beltrão  
(deividfasolo@hotmail.com)

<sup>2</sup>Doutor em Agronomia, Zootecnista (acirfgcarvalho@gmail.com)

**Resumo:** Objetivou-se, nesta pesquisa, avaliar o efeito de diferentes inoculantes bacterianos, utilizados de forma individual e em misturas, em silagens produzidas com plantas de milho com ponto ideal de colheita, quanto às perdas fermentativas e estabilidade aeróbia, analisando as características bromatológicas da silagem. O experimento foi realizado no município de Marmeleiro, sudoeste do Paraná. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com oito tratamentos e três repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Os inoculantes utilizados contêm: *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, amilase, sacarose, *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* e a Testemunha, além da análise da forragem antes do processo de ensilagem. As características bromatológicas avaliadas foram o teor de matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo, proteínas, aminoácidos, carboidratos e produtos oriundos da fermentação. Os resultados das variáveis observadas foram submetidos ANOVA e as características que apresentaram diferença significativa foram comparadas pelo teste de Skott-Knott, em nível de 5% de significância, usando o software estatístico Genes. Verificou-se efeito positivo dos inoculantes bacterianos, onde o Tratamento B + C (que utilizou associação de inoculantes) apresentou os melhores resultados para MS, MM, EE e os teores de proteínas. Com relação aos níveis de aminoácidos o Tratamento A e para os carboidratos o Tratamento B apresentaram as melhores médias, já para produtos resultantes da fermentação da silagem (pH, ácido lático, ácido acético) e perdas fermentativas, os melhores índices foram encontrados no Tratamento A + B + C. De modo geral, o uso de inoculantes em silagem de milho, auxilia de maneira positiva na grande maioria das características da silagem, especialmente quando utilizados em associação.

**Palavras-chave:** Aminoácidos. Carboidratos. Características Bromatológicas. Digestibilidade. Fermentação. Inoculação. Proteínas.

## **USE OF DIFFERENT BACTERIAL INOCULANTS ISOLATED AND IN ASSOCIATION FOR CORN SILAGE**

**Abstract:** The objective of this research was to evaluate the effect of different bacterial inoculants, used individually and in mixtures, in silages produced with corn plants with ideal harvest point, regarding fermentative losses and aerobic stability, analyzing the bromatological characteristics of the silage. The experiment was carried out in the municipality of Marmeleiro, southwest of Paraná. A completely randomized design was used, with eight treatments and three replications, totaling 24 experimental units. The inoculants used contain: *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, amylase, sucrose, *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* and the Witness, in addition to forage analysis before the ensiling process. The bromatological characteristics evaluated were the content of dry matter, mineral matter, ether extract, proteins, amino acids, carbohydrates and products from fermentation. The results of the observed variables were submitted to ANOVA and the characteristics that showed a significant difference were compared using the Skott-Knott test, at a level of 5% of significance, using the statistical software Genes. There was a positive effect of bacterial inoculants, where Treatment B + C (which used an association of inoculants) showed the best results for DM, MM, EE and protein levels. Regarding the amino acid levels, Treatment A and for carbohydrates, Treatment B presented the best averages, as for products resulting from silage fermentation (pH, lactic acid, acetic acid) and fermentative losses, the best indexes were found in Treatment A + B + C. In general, the use of inoculants in corn silage, positively helps in most of the characteristics of silage, especially when used in combination.

**Keywords:** Amino acids. Bromatological characteristics. Carbohydrates. Digestibility. Fermentation. Inoculation. Proteins.

### **1. INTRODUÇÃO**

A pecuária leiteira é uma atividade de grande importância para o Brasil, representando a fonte de renda para 1.176.295 de propriedades, com um rebanho leiteiro de 16.357.485 de cabeças e uma produção de 33.839.864 toneladas de leite (IBGE, 2018). Dentro deste contexto, um dos principais alimentos utilizados na alimentação destes animais é a silagem,

sendo a mais comum, a silagem de milho, porém utiliza-se também outras culturas, como sorgo, cana de açúcar e diversas outras gramíneas forrageiras.

A ensilagem compreende o armazenamento de forragem úmida em local fechado, sem a presença de oxigênio. O princípio básico desta modalidade de conservação é a transformação dos açúcares solúveis existentes na planta em ácido lático. De acordo com Neumann *et al.* (2010) o objetivo dessa técnica é manter as características nutricionais do alimento, possibilitando menor índice de perdas da massa ensilada, para depois usar na alimentação animal.

No início a silagem era apenas para suprir as necessidades nutricionais nos períodos de vazio forrageiro, onde havia escassez de pastagem, porém com evolução genética e os bons resultados, este alimento passou a ser imprescindível nas propriedades, que cada vez mais investem em tecnologias com o intuito de alcançar um alimento de melhor qualidade e conseqüentemente aumentar a produção dos animais.

Das plantas utilizadas no processo de ensilagem, o milho é a que apresenta uma das melhores relações de custo benefício, pois possui alto valor nutritivo, alta palatabilidade e digestibilidade, boa conversão alimentar, além de custos razoáveis de produção, é uma cultura de fácil manejo, desde a implantação até o processo final de ensilagem. Porém, devem ser observados inúmeros fatores que podem afetar a qualidade final da silagem, que vai desde a escolha do híbrido, adubação, manejo de pragas, ponto de colheita, tamanho de corte de partícula, compactação, vedação do silo e por fim o processo de fermentação da massa ensilada.

O processo de fermentação passa por quatro fases: aeróbia, anaeróbia, estabilidade e descarga (KYOTA *et al.*, 2011). Cada fase desta sofre a ação de inúmeros microrganismos, como fungos, bactérias, etc. Alguns microrganismos atuam positivamente, já outros afetam negativamente o processo de fermentação o que pode resultar em muitas perdas no produto final. Para auxiliar o processo de fermentação tem-se utilizado alguns aditivos, como, ureia, melaço, farelos, bagaço de frutas e inoculantes bacterianos (PEREIRA NETO; MACIEL; VASCONCELOS, 2009). Com o objetivo de garantir uma fermentação completa, resultando em uma silagem de melhor qualidade, adicionando microrganismos benéficos e inibindo os maléficos (ÍTAVO *et al.*, 2006). Do ponto de vista comercial os inoculantes bacterianos são os mais utilizados, por serem de fácil manuseio e boa eficiência, apresentando altos níveis de produção de ácido lático (AL) e rapidez na diminuição do potencial hidrogeniônico (pH), necessários para uma boa silagem.

Neste contexto, a busca por alternativas que possam melhorar a qualidade nutricional da silagem, como os inoculantes bacterianos, devem ser constantes, porém, todavia são necessários mais estudos para verificar e quantificar a eficiência destes produtos na conservação das características da silagem. Espera-se encontrar resultados favoráveis, para que assim, estas técnicas possam ser difundidas para propriedades que fazem o uso da silagem. Esse trabalho tem por objetivo avaliar características bromatológicas de silagem de milho com uso de diferentes inoculantes bacterianos isolados e em associação.

## **2. METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido na Fazenda Ipomeia, que está situada na BR 280, quilômetro 15, município de Marmeleiro, localizada nas coordenadas: latitude 26°12'51.92"S, longitude 53°7'28.73"O, e altitude: 795 metros. O clima predominante na região segundo a classificação de Koppen é subtropical úmido mesotérmico (Cfa), com chuvas bem distribuídas durante o ano e verões quentes (ALVARES *et al.*, 2014).

A classificação do solo do local do experimento, é NVdf2 - Nitossolo Vermelho Distroférico (EMBRAPA, 2006). Antes da implantação da cultura de inverno, foi realizado uma análise de solo, para realizar adubação de correção do solo na pré-semeadura do milho. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e três repetições, totalizando 24 unidades experimentais (microsilos). Cada tratamento utilizado foi indicado por um número e o inoculante, foi indicado por uma letra (Tabela 1), a união de letras, refere-se a união dos inoculantes.

Os inoculantes utilizados, que foram representados por letras, possuem em sua composição as seguintes bactérias que atuam no processo fermentativo da silagem:

A - *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, amilase e sacarose.

B - *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*.

C - *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*.

H – Testemunha.

**Tabela 1** - Tratamentos utilizados no experimento de silagem de milho com utilização de diferentes inoculantes bacterianos, isolados e em associação. UNISEP - Francisco Beltrão/PR, 2020.

Tratamentos	Aditivos
Tratamento 1	A
Tratamento 2	B
Tratamento 3	C
Tratamento 4	A + B
Tratamento 5	A + C
Tratamento 6	B + C
Tratamento 7	A + B + C
Tratamento 8	Testemunha

Fonte: Autores (2021).

O híbrido de milho utilizado no experimento para o processo de ensilagem foi o Pioneer® P3565PWU. A semeadura foi realizada mecanicamente com semeadora acoplada ao trator agrícola e ocorreu no dia 20 de fevereiro de 2019. Os tratamentos culturais foram, a adubação de base de 350 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 8-20-15 (N-P-K), e posteriormente em V4 a adubação de cobertura com ureia protegida a 27% N, onde a dose foi de 300 kg ha<sup>-1</sup>. O controle de plantas daninhas foi realizado com aplicação de herbicida (6-cloro-N2-etil-isopropil-1,3,5 – triazina-2,4 – diamina triazina), na dosagem 5 L ha<sup>-1</sup>. O inseticida foi utilizado na dosagem de 0,3 L ha<sup>-1</sup>, para o controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*).

A colheita do material para silagem foi realizada no dia 06 de junho de 2019 quando os grãos de milho atingiram o estágio pastoso à farináceo duro, o que corresponde a visualização da linha de leite entre 1/3 e 2/3 do grão (30 a 35% de matéria seca). A forragem foi colhida utilizando-se da colhedora forrageira JF 92Z10 acoplada ao trator agrícola, onde o milho foi cortado em pequenos fragmentos, com tamanho médio de partícula de 1,4 cm. O material colhido foi pesado em porções de trinta quilos de silagem para cada tratamento, e acondicionado em lonas para mistura e homogeneização do inoculante.

A dose de inoculante recomendada pelos fabricantes, é de cinquenta gramas para cada cinquenta toneladas de silagem. Os inoculantes foram diluídos manualmente utilizando água mineral em temperatura de 25°C para não haver interferência através de impurezas que podem estar presentes na água. Após a aplicação dos aditivos à silagem de milho in natura, foram retiradas três amostras de cada tratamento, pesando três quilogramas (kg) cada, para serem ensilados em microsilos laboratoriais de canos de policloreto de vinila (PVC), com 100 mm de diâmetro e 500 mm de comprimento, com massa específica aproximada de 828,00 kg m<sup>-3</sup>. Foram colocados no fundo de cada microsilo 250 g de areia previamente

seca em estufa, separados da silagem por um tecido de algodão no tamanho do diâmetro do microssilo.

A compactação do material foi realizada manualmente com a ajuda de um compactador de madeira. Após o enchimento dos microsilos, o material foi isolado com jornal e fechado com lona plástica dupla face, por fim vedado com fita plástica adesiva para impedir a entrada de ar, sendo em seguida armazenados em local seco e ventilado.

O material permaneceu ensilado por 270 dias. Após esse período, em laboratório, os microsilos foram abertos para que as análises bromatológicas fossem realizadas. Foram retirados 400 g de silagem de milho do material de cada microssilo e realizadas a secagem em estufa de ventilação forçada com temperatura de 55°C por três dias ou até que se estabilizasse a massa da amostra.

As características bromatológicas avaliadas foram as seguintes: matéria seca (MS, %), matéria mineral (MM, %), extrato etéreo (EE, %), proteína bruta (PB, %) e pH foram determinados segundo os métodos da AOAC (1980) citados por Silva e Queiroz (2002). Fibra em detergente neutro (FDN, %) foram conduzidas de acordo com Mertens *et al.* (2002). Fibra em detergente ácido (FDA, %) foram conduzidas de acordo com Van Soest, Robertson e Lewis (1991). Os aminoácidos (lisina, metionina e histidina, %), nitrogênio não proteico (NNP), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA, %), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN, %), proteína solúvel (PS, %), carboidratos (lignina e amido, %), produtos da fermentação (ácido lático, ácido acético e perdas fermentativas, %) foram determinados pelo método de NIRS (espectroscopia no infravermelho próximo) citado por Lima e Bakker (2011).

Todos os resultados das variáveis observadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as características que apresentaram diferença significativa foram comparadas pelo teste de Skott-Knott, em nível de 5% de significância, usando o software estatístico Genes (CRUZ, 2006).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A lavoura da qual foi retirado o milho para fazer as silagens, desenvolveu-se sem que plantas daninhas, pragas e doenças tenham interferido no desempenho, sendo o resultado da utilização de defensivos aplicados preventivamente. No que diz respeito às condições ambientais os quais proporcionam o crescimento e desenvolvimento das plantas, a quantidade de chuvas pode ser considerada favorável para o desenvolvimento da cultura do milho, não comprometendo a produtividade e a qualidade do milho avaliado. Segundo

Zopollatto, Daniel e Nussio (2009), a planta de milho exige precipitação mínima de 350 a 500 mm para um bom desenvolvimento e para as condições atuais foram verificadas uma precipitação de 450 mm de forma bem distribuída o que se considera valores adequados para bons níveis de produtividade do milho de segunda safra.

As características bromatológicas da silagem, apresentam grande importância na dieta de ruminantes. O teor de matéria seca (MS) definido por Salman *et al.* (2010), como toda fração do alimento excluída a água ou umidade natural, sendo considerado um dado de extrema importância, principalmente quando obtido de alimentos volumosos, que normalmente apresentam umidade variável.

Para as variáveis matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos testados, onde foram analisados além dos oito tratamentos, uma porção de forragem sem passar pelo processo de ensilagem, sendo que esta foi a amostra que apresentou maior teor de MS com 35,84%, diferindo de todos os demais tratamentos. Era esperado que ao analisar as amostras ensiladas, que estas apresentassem menores índices de MS, pois no primeiro momento, o material ainda não havia perdido água. Busca-se preservar os teores de MS após ensilar, portanto podemos verificar que ocorreu perda por efluente.

Sendo assim, levando em consideração as massas ensiladas, o Tratamento B + C (*Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*), foi o que apresentou a melhor média de MS com 30,02% e o Tratamento A + B (*Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, amilase e sacarose + *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*) obteve a menor média de MS 28,48%, sendo apenas superior a testemunha.

A Testemunha foi o que apresentou a menor média de MS 28,24%, sendo possível observar que a adição de inoculante na silagem, interfere positivamente no teor de MS, o que caracteriza que estas são consideradas silagens de boa qualidade, pois, segundo Wilkinson (1990) silagens com matéria seca abaixo de 25% e pH acima de 4,8 certamente não estão bem conservadas.

As cinzas ou matéria mineral (MM) é o nome dado ao resíduo obtido por aquecimento da amostra seca (SALMAN *et al.*, 2010). A partir das cinzas podem-se determinar os teores de minerais como Cálcio e Fósforo a partir da calcinação e preparo de soluções minerais (SILVA; QUEIROZ, 2002). Com relação ao teor de MM observa-se que as médias estão dentro do que é preconizado para uma boa silagem, onde o Tratamento B + C foi o que apresentou o maior índice (5,97%). Dentre as amostras ensiladas, o tratamento que

apresentou a menor média foi o Tratamento A + B + C (5,22%), acima apenas do material antes do processo de ensilagem (3,98%).

Já o extrato etéreo (EE), corresponde ao teor de óleo na silagem, ou seja, os lipídios (ZENEBO *et al.*, 2008). Analisando o teor de EE, onde novamente o tratamento que apresentou maior média foi o Tratamento B + C (3,23%), divergindo estatisticamente de todos os demais. A apresentou a menor média foi a Testemunha (2,74%), superando apenas a amostra analisada antes do processo de ensilagem (2,44%). Estes dados demonstram que os inoculantes auxiliam na elevação no teor de EE (lipídios) na silagem.

**Tabela 2** – Teores médios de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) da silagem de milho com utilização de diferentes inoculantes bacterianos, isolados e em associação. UNISEP - Francisco Beltrão/PR, 2020.

	MS	MM	EE
Antes de ensilar	35,84a	3,98h	2,44i
Tratamento A	28,92e	5,38d	2,86g
Tratamento B	28,68g	5,35e	2,88f
Tratamento C	29,72c	5,81b	2,90e
Tratamento A +B	28,48h	5,28f	2,95d
Tratamento A + C	28,78f	5,42c	3,05b
Tratamento B + C	30,02b	5,97a	3,23a
Tratamento A + B + C	29,57d	5,22g	3,02c
Testemunha	28,24i	5,26f	2,74h
Média	29,81	5,30	2,90
CV%	0,03	0,15	0,29

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste Skott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro. \*\*CV (%) Coeficiente de variação.

Com relação ao NNP equivalente, os tratamentos que se destacaram foram o Tratamento A + B e o Tratamento C (0,85% e 0,84%), não apresentando diferença estatística entre si, porém diferem-se dos demais. Já o Testemunha (0,68%) e a massa sem ensilar obtiveram as menores médias (0,06), visto que esta última não passou pelo processo fermentativo da ensilagem. O que poderia reduzir o teor de proteína verdadeira e aumenta a concentração de NNP pelas atividades das enzimas proteolíticas (PIRES; CARVALHO; GARCIA, 2009).

Huhtanen *et al.* (2003) avaliando as relações entre as características da fermentação de silagens e a produção de leite, encontraram efeito negativo significativo no conteúdo de gordura e proteína do leite com o aumento dos níveis de N-NH<sub>3</sub> e ácidos totais das silagens.



Já Senger *et al.* (2005) identificaram que os níveis de N-NH<sub>3</sub> como % do N total foram significativamente afetados apenas pelos níveis de MS da silagem.

De acordo com Henriques *et al.* (2007) a fração dos compostos nitrogenados ligada à porção insolúvel em detergente ácido da parede celular (PIDA) tem sido empregada como estimador do potencial de aproveitamento proteico nos alimentos por alguns dos principais sistemas nutricionais. Sendo assim, foi possível observar, que quase todos os tratamentos apresentaram diferença estatística para os teores de PIDA, onde, o tratamento que apresentou maior média foi o Tratamento A (1,28%), porém, como trata-se da questão da digestibilidade do alimento, quanto menor os índices de PIDA e PIDN, melhor será a digestibilidade no organismo do animal, sendo assim os Tratamentos A + B e a Testemunha (0,72% e 0,71%) apresentaram as menores médias das amostras ensiladas e pôr fim a massa antes de ensilar (0,48%).

Senger *et al.* (2005) observaram que a fração proteica, considerada indisponível (PIDA), não foi significativamente influenciada pela compactação, apenas pela umidade, sendo que os níveis mais altos foram observados nos tratamentos com baixo teor de MS, diminuindo gradativamente com o aumento da MS.

Avaliando o teor de PIDN, que se refere a fração proteica associada à parede celular, observou-se que o maior índice ocorreu na análise da massa sem ensilar (1,21%). Já avaliando as massas ensiladas, o Tratamento B apresentou índice maior (1,05%). O tratamento de menor média, foi o Tratamento A (0,73%). Desta forma, evidencia-se que a massa após passar pelo processo fermentativo da silagem, tende a diminuir o teor de PIDN. Porém, como evidenciado por Senger *et al.* (2005), as variações na fração proteica associada à parede celular (PIDN) entre os tratamentos, aparentemente não se explicam de uma forma lógica. Sendo a silagem de milho um volumoso com baixo nível de proteína, esta variação pode estar associada ao erro experimental.

Analisando a porcentagem da proteína solúvel (PS), o tratamento que obteve maior destaque, foi o Tratamento A + B + C (5,86%) e com as menores médias a Testemunha (5,3%) e pôr fim a massa antes do processo de ensilagem (3,10%), ambos sem inoculação. O que demonstra, que o uso de inoculantes bacterianos, ajuda no aumento do nível de PS, especialmente quando se associa inoculantes, sendo os tratamentos com as maiores médias.

**Tabela 3** - Teores médios de proteína bruta (PB); nitrogênio não proteico (NNP), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína solúvel (PS) de silagem de milho com utilização de diferentes inoculantes bacterianos, isolados e em associação. UNISEP - Francisco Beltrão/PR, 2020.

	PB	NNP.	PIDA	PIDN	PS
Antes de ensilar	7,81g	0,06f	0,48h	1,21a	3,10g
Tratamento A	8,04e	0,76c	1,28a	0,73f	5,52e
Tratamento B	8,69b	0,76c	0,76d	1,05b	5,59d
Tratamento C	8,69b	0,84a	0,73f	0,93d	5,76b
Tratamento A +B	8,49d	0,85a	0,72g	0,90e	5,75b
Tratamento A + C	8,56c	0,74d	0,77c	0,98c	5,65c
Tratamento B + C	8,74a	0,81b	0,75e	0,88e	5,75b
Tratamento A + B + C	8,76a	0,74d	0,82b	1,00c	5,86a
Testemunha	7,95f	0,68e	0,71g	0,87e	5,30f
Média	8,42	0,69	0,78	0,95	5,36
CV%	0,14	1,53	0,72	1,62	0,22

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste Skott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro. \*\*CV (%) Coeficiente de variação.

Analisando os aminoácidos presentes na silagem de milho: Lisina, Metionina e Histidina (Tabela 4), houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos testados, onde se observou que com relação a lisina, o Tratamento B apresentou a maior média (3,18%), já os demais tratamentos não obtiveram diferença estatística entre si, com o Tratamento A + B + C apresentando a menor média (3,04%). Segundo Stieven *et al.* (2011) a proporção de lisina e metionina na proteína microbiana normalmente atende as exigências dos ruminantes, porém, há maior preocupação do perfil de aminoácidos da proteína não degradável no rúmen (PNDR), especialmente para animais de alta exigência e alta produção.

Já a metionina que é um aminoácido primário e essencial, sendo considerado o primeiro aminoácido limitante na produção dos bovinos leiteiros, especialmente quando a proteína microbiana é a fonte predominante de aminoácidos que suprem o intestino delgado (RULQUIN; DELABY, 1997). Para este aminoácido, o Tratamento C teve uma média muito superior aos demais tratamentos (5,99%), seguido pelo Tratamento B (2,00%), já os tratamentos A + B, A + C e B + C (entre 1,98% e 1,99%) não apresentaram diferença significativa entre si, porém diferiram dos demais.

Para histidina, o tratamento que teve a maior média foi o Tratamento B (2,34%), já os demais tratamentos obtiveram médias muito semelhantes, com a massa antes da ensilagem

com a menor média (2,25%). Observa-se que, mesmo com diferença estatística, os valores encontrados são muito próximos. Neste sentido, é possível identificar que o teor de aminoácidos é influenciado pela presença de inoculantes na silagem, pois nestes tratamentos foram encontradas as maiores médias, superiores a testemunha e a massa sem ensilar.

**Tabela 4** - Teores médios de aminoácidos: Lisina, Metionina e Histidina de silagem de milho com utilização de diferentes inoculantes bacterianos, isolados e em associação. UNISEP - Francisco Beltrão/PR, 2020.

	LISINA	METIONINA	HISTIDINA
Antes de ensilar	3,06c	1,92f	2,25d
Tratamento A	3,13b	1,96d	2,29c
Tratamento B	3,18a	2,00b	2,34a
Tratamento C	3,07c	5,99a	2,26d
Tratamento A + B	3,14b	1,98c	2,31b
Tratamento A + C	3,13b	1,98c	2,32b
Tratamento B + C	3,15b	1,99c	2,32b
Tratamento A + B + C	3,04c	1,95e	2,28c
Testemunha	3,09c	1,95e	2,27c
Média	3,11	2,41	2,29
CV%	0,61	0,25	0,51

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste Skott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro. \*\*CV (%) Coeficiente de variação.

Avaliando os teores médios de carboidratos presentes na silagem de milho: FDA, FDN, Lignina e Amido (Tabela 5), houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos testados. A FDA é a porção menos digestível da parede celular das forrageiras pelos microrganismos do rúmen, constituída quase na sua totalidade por lignocelulose, ou seja, lignina e celulose (SALMAN *et al.*, 2010).

Os teores médios de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) que se referem a digestibilidade dos animais das silagens de milho, tratadas ou não com inoculantes microbianos. Analisando o efeito de inoculante dentro de silagens, constatou-se que os teores de FDA foram bastante diferentes estatisticamente, onde o tratamento de maior média, é o Tratamento B (29,05%), porém, como trata-se da questão da digestibilidade do alimento, quanto menor os índices de FDA, FDN e Lignina, melhor será a digestibilidade no organismo do animal, sendo assim o Tratamento A (26,86%) e a amostra

antes da ensilagem (24,84%), obtiveram as melhores médias. Desta forma, verifica-se que o uso de inoculantes afeta positivamente o teor de FDA nas silagens, porém a associação de inoculantes não demonstrou resultados tão significativos, visto que, as melhores médias foram encontradas nas silagens com uso de inoculantes utilizados de forma isolada.

Com relação a FDN, observa-se que os dados dos tratamentos são similares com a FDA, onde os tratamentos que apresentaram tanto as maiores, como as menores médias para FDA, são os mesmos para FDN, sendo o Tratamento B a maior média (44,22%), já o Tratamento A e a massa sem ensilagem apresentaram as menores médias (40,65%), portanto, estes últimos são considerados os melhores resultados.

Na média das amostras o FDN apresentou o valor de 42,65%, divergindo de Rodrigues *et al.* (2004), onde os valores de FDN foram superiores a 55%, o que é considerado alto para uma silagem de milho. Porém, os valores encontrados no experimento encontram-se dentro da amplitude de variação de 36 a 50%, citada por Oliveira *et al.* (2002).

Referente aos teores de lignina, identificou-se que todos os tratamentos apresentaram diferença estatística, onde o tratamento de média mais alta foi o Tratamento C (5,95%). Já com uma média bem abaixo dos demais encontra-se o Tratamento A (2,08%), que segundo os parâmetros de digestibilidade, é considerado o melhor tratamento. Já para os teores de amido das amostras, foi possível observar que, as médias mais altas são encontradas nos tratamentos sem inoculação, com a massa sem ensilar (33,16%) e a Testemunha (28,72%), já a menor média encontram-se no Tratamento A + B + C (26,29%). Desta forma, identificou-se que a inoculação não influencia positivamente nos teores de amido nas silagens de milho, no entanto, todas as médias estão dentro dos parâmetros do se é preconizado para uma silagem de boa qualidade.

**Tabela 5** - Teores médios de carboidratos: fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), lignina e amido de silagem de milho com utilização de diferentes inoculantes bacterianos, isolados e em associação. UNISEP - Francisco Beltrão/PR, 2020.

	FDA	FDN	LIGNINA	AMIDO
Antes de ensilar	24,84h	40,65g	5,08h	33,16a
Tratamento A	26,86g	41,18f	2,08i	28,59c
Tratamento B	29,05a	44,22a	5,89b	26,53h
Tratamento C	28,76b	43,91b	5,95a	26,76f
Tratamento A + B	27,78e	41,96e	5,57g	28,48d
Tratamento A + C	28,03d	42,86d	5,68d	26,59g
Tratamento B + C	28,43c	42,81d	5,83c	27,01e
Tratamento A + B + C	27,55f	43,42c	5,59f	26,29i
Testemunha	27,78e	42,86d	5,65e	28,72b
Média	27,67	42,65	5,26	28,01
CV%	0,03	0,05	0,11	0,03

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste Skott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro. \*\*CV (%) Coeficiente de variação.

Referente ao KD do FDN, KD do Amido e TTNDFD, se observou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Desta forma, sabe-se que, quanto maior for o KD do FDN, maior será a chance de o FDN ser fermentado pelo rúmen, ou seja, esse fator indica a porcentagem do FDN que é degradada por hora no rúmen (Tabela 6), então, a amostra que apresentou maior índice foi do Tratamento C (5,84%) diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos e as menores médias forma observadas no Tratamento A + B + C (4,55%) e por último a amostra antes do processo de ensilagem (4,49%).

Já para KD do AMIDO, o maior índice encontrado está no Tratamento A (24,29%), diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos, já as menores médias foram encontradas no Tratamento A + C (20,41%) e na amostra antes da ensilagem (15,06%). Evidenciando que a inoculação aumenta os níveis de KD do AMIDO.

Com relação ao total de fibras a ser aproveitado pelo rúmen (TTNDFD) do FDN a amostra antes de ensilar, apresentou o maior índice (41,45%), diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos. Se tratando das amostras ensiladas, o Tratamento C apresentou a melhor média (40,41%), ou seja, apresentou maior aproveitamento ao ser degradado no rúmen animal, já o Tratamento A + C obteve a menor média (37,22%).

**Tabela 6** - Teores médios de KD do FDN%; KD do Amido% e TTNDFD de silagem de milho com utilização de diferentes inoculantes bacterianos, isolados e em associação. UNISEP - Francisco Beltrão/PR, 2020.

	KD do FDN%	KD do AMIDO%	TTNDFD
Antes de ensilar	4,49i	15,06i	41,45a
Tratamento A	4,85f	24,29a	39,36d
Tratamento B	4,97d	22,52b	38,17h
Tratamento C	5,84a	22,07e	40,41b
Tratamento A + B	5,22c	22,26d	38,88e
Tratamento A + C	4,78g	20,41h	37,22i
Tratamento B + C	5,73b	21,59f	40,12c
Tratamento A + B + C	4,55h	22,28c	38,22g
Testemunha	4,93e	20,89g	38,86f
Média	5,04	21,26	39,19
CV%	0,15	0,04	0,03

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste Skott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro. \*\*CV (%) Coeficiente de variação.

Os principais produtos obtidos no processo de fermentação da silagem são: pH, ácido láctico, ácido acético, além das perdas fermentativas (Tabela 7). Sendo assim, foi observado diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos testados. De acordo com Cruz *et al.* (2000), quanto mais baixo for o valor de pH observado, maior será a acidez da silagem. Então, o pH é um bom indicador da atividade microbiana ou da extensão da fermentação no silo. No entanto, o valor do pH normalmente aumenta à medida que o teor de MS da forragem ensilada aumenta. Sendo assim, o menor pH de silagens pode promover a hidrólise ácida da hemicelulose, resultando em ruptura das células da forragem e favorecendo um ataque mais extensivo pelos microrganismos ruminais (MUCK, 1993).

Desta forma, como já era de se esperar, o material analisado antes da ensilagem apresentou o nível de pH mais elevado (6,02), justificado pelo fato de que esta amostra não tenha passado pelo processo fermentativo. Das amostras ensiladas, as que apresentaram menor nível de pH foram os Tratamentos A e A + B + C (3,75) evidenciando uma silagem de boa qualidade. Os demais tratamentos, apesar de estatisticamente serem diferentes, apresentaram bons níveis de pH, porém, não se pode afirmar com certeza a eficiência dos inoculantes na diminuição do pH, pois a testemunha sem inoculação apresentou pH mais baixo que alguns tratamentos inoculados. Os dados obtidos, diferem dos encontrados por

Luther (1986), Chen, Stokes e Wallace (1994), onde os mesmos não observaram diminuição do pH da silagem, em função da inoculação.

O ácido láctico é oriundo da fermentação da silagem, quanto maior este índice melhor, ao contrário do que acontece com o ácido acético, que quanto menor o teor, melhor é a qualidade da silagem. Sendo assim, o Tratamento A + B + C (6,08%) e o Tratamento A + B (5,79%) apresentaram os maiores níveis de ácido láctico, evidenciando o efeito positivo no uso de inoculantes bacterianos, especialmente quando se associa mais de um inoculante na silagem, como é o caso destes tratamentos.

O menor índice de ácido láctico foi observado no Tratamento C (3,98%), sendo inclusive inferior a amostra testemunha. Higginbothan *et al.* (1998) não identificaram diferenças significativas estatisticamente para a concentração de ácido láctico, em decorrência da presença de inoculantes no tratamento de silagens de milho. No entanto, em experimentos realizados por Combs *et al.* (1986) a inoculação aumentou a concentração de ácido láctico em 7%.

Com relação ao ácido acético, o menor índice encontrado foi na Testemunha (1,89%), diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos. Assim como para o ácido láctico, o pior tratamento para ácido acético, foi o tratamento B (2,96%). Sendo assim, a inoculação não afetou de maneira positiva os teores de ácido acético. Pois segundo Ferreira (2005), as silagens que tiverem fermentação adequada apresentarão níveis de ácido acético menores que 2,0% da MS, porém, valores superiores a estes indicam alterações indesejáveis durante o processo de ensilagem.

Referente as perdas por fermentação, o Tratamento B apresentou o maior índice de perdas (4,69%), inclusive superior a testemunha. Já o Tratamento A + B + C, apresentou o menor índice de perdas por fermentação, verificando que a união de dois ou mais inoculantes tende a diminuir as perdas fermentativas da silagem, evidenciando uma silagem de boa qualidade. Como a amostra antes de ensilar não passou pelo processo fermentativo, a mesma não apresentou índice de ácido láctico, ácido acético e perdas por fermentação.

**Tabela 7** - Teores médios dos Produtos de Fermentação (pH, ácido láctico, ácido acético) e perdas fermentativas de silagem de milho com utilização de diferentes inoculantes bacterianos, isolados e em associação. UNISEP - Francisco Beltrão/PR, 2020.

	pH	A. LÁTICO	A. ACÉTICO	P. FERM.
Antes de ensilar	6,02a	0,00i	0,00i	0,00g
Tratamento A	3,75g	5,64d	2,41f	3,38d
Tratamento B	3,95b	3,98h	2,96a	4,64a
Tratamento C	3,81d	5,69c	2,43e	3,18e
Tratamento A + B	3,78f	5,79b	2,47d	3,50b
Tratamento A + C	3,78f	5,48f	2,06g	3,39d
Tratamento B + C	3,85c	5,03g	2,77b	3,51b
Tratamento A + B + C	3,75g	6,08a	2,53c	3,07f
Testemunha	3,79e	5,55e	1,89h	3,45c
Média	3,83	4,91	2,29	3,48
CV%	0,21	0,21	0,41	0,24

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste Skott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro. \*\*CV (%) Coeficiente de variação.

A grande maioria das variáveis analisadas no experimento apresentou resultados positivos por meio da adição de inoculantes bacterianos na silagem de milho, com boa resposta quando ocorreu a mistura dos inoculantes, ao contrário de Rodrigues *et al.* (2004) que observaram que a adição de inoculantes à planta de milho para a produção de silagens não alterou a digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, extrativos não nitrogenados, fibra bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e amido, bem como os nutrientes digestíveis totais.

#### 4. CONCLUSÕES

Foi possível visualizar vários resultados satisfatórios nas características bromatológicas, fermentativas e digestibilidade através do uso de inoculantes bacterianos em silagem de milho. Com relação a MS, MM e EE, o tratamento que se destacou em todos estes quesitos, é o *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*, evidenciando que a associação de dois inoculantes podem trazer resultados satisfatórios para silagem.

Com relação aos teores de PB e demais proteínas, a amostra de maior destaque, foi *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus plantarum* e



*Propionibacterium acidipropionici*, verificando a superioridade quando se utiliza mais de um inoculante.

Com relação aos aminoácidos o tratamento de maior destaque foi o *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, já para carboidratos foi o *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, amilase e sacarose, confirmando que a adição de inoculantes, interfere positivamente nestes quesitos, porém, quando utilizados de maneira isolada. No entanto, identificou que a inoculação não influencia positivamente nos teores de amido.

Analisando os produtos resultantes da fermentação da silagem, o *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, amilase e sacarose + *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* apresentou as melhores médias, com nível de pH, de ácido acético e nível de perdas mais baixos, já o ácido láctico com teor mais alto, características estas que evidenciam uma boa silagem, podendo conferir que a associação de inoculantes interfere positivamente no processo fermentativo da silagem.

De modo geral, o uso de inoculantes, auxilia de maneira positiva na grande maioria das características da silagem, especialmente quando utilizados em associação, porém, devido alguns resultados apresentarem pouca diferença, sugerimos que sejam realizados maiores estudos para comprovar sua eficácia. Seria interessante a aplicação deste experimento à campo, onde as condições do ambiente e manejo, sejam as mesmas das encontradas no dia a dia das propriedades rurais.

## REFERÊNCIAS

ALVARES, C. A. *et al.* Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711 - 728, 2014.

CHEN, J.; STOKES, M. R.; WALLACE, C. R. Efeitos dos sistemas de inoculação com enzima na preservação e no valor nutritivo de feno e silagens de milho. **Journal of Dairy Science**. v. 77, pp. 501-512, 1994.

COMBS, D.K. *et al.* Effect of microbial inoculant on silage fermentation in large scale laboratory silos. **Journal of Dairy Science**, v.69, supl.1, p.186, 1986.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Estatística experimental e matrizes**. v. 1, Viçosa: UFV, 2006, 285 pp.

CRUZ, G. M. *et al.* Interpretação dos resultados de análises bromatológicas de silagens e outros ingredientes para ração. *In: SEMANA DO ESTUDANTE*, 14, 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2000. p.144-156.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2 ed. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2006, 306 pp.

FERREIRA, J. J. C. **Avaliação da qualidade e do perfil de fermentação das silagens de seis genótipos de sorgo**. 2005. 66 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2005.

FILYA, I. The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v.86, n. 11, p. 3575 - 3581, 2003.

HENRIQUES, L. T. *et al.* Frações dos compostos nitrogenados associados à parede celular em forragens tropicais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 59, n. 1, p. 258-263, 2007.

HIGGINBOTHAN, G.E. *et al.* Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.8, p. 2185-2193, 1998.

HUHTANEN, P. *et al.* Relationships between silage fermentation characteristics and milk production parameters: analyses of literature data. **Livestock Production Science**. v.81, p.57-73, 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM**. 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>> Acesso em: 15 de abril de 2020.

ÍTAVO, C. B. F. *et al.* Padrão de fermentação e composição de silagens de grãos úmidos de milho e sorgo submetidas ou não a inoculação microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, pp. 655-664, 2006.

KIYOTA, N. *et al.* **Silagem de Milho na Atividade Leiteira do Sudoeste do Paraná: do Manejo de Solo e de seus Nutrientes à Ensilagem de Planta Inteira e Grãos Úmidos**. Londrina: IAPAR, 2011, 124 pp.

KUNG JUNIOR, L.; STOKES, M. R.; LIN, C. J. Silage additives. *In*: BUXTON, D.R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. **Silage science and technology**. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, pp. 305-360, 2003. Disponível em: <[https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=000129&pid=S1516-3598200900130001800027&lng=pt.](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000129&pid=S1516-3598200900130001800027&lng=pt.)> Acesso em: 20 de março de 2020.

KUNG JUNIOR, L; RANJIT, N. K. 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, p. 526-535, 2000.

LIMA, A.; BAKKER, J. Espectroscopia no infravermelho próximo para a monitorização da perfusão tecidual. **Revista brasileira de terapia intensiva**. v. 23, n. 3, p. 341-351, 2011.

LUTHER, R. M. Effect of microbial inoculation of whole plant corn silage on chemical characteristics, preservation and utilization by steers. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1329-1336, 1986.

MERTENS, D. R. Gravimetric Determination of Amylase-Treated Neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217 - 1240, 2002.

MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. *In*: **Silage Production From Seed to Animal**, 1993, New York. Proceedings... New York: NRAES, 1993. n.67, p.106-116.

NEUMANN, M. *et al.* Aditivos químicos utilizados em silagens. **Pesquisa aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 187 - 195, 2010.

PEREIRA NETO, M; MACIEL, F. C.; VASCONCELOS, R. M. J. **Produção e uso de silagens**. Natal: EMPARN, 2009, 30 pp.

PEREIRA, J. R. A. **Entendendo a qualidade da sua silagem**. PIONEER. 2006. Disponível em: <[http://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/54/entendendo-a-qualidade-da-sua-silagem#:~:text=PROTE%C3%8DNA%20BRUTA%20\(PB\),5%20a%2010%25%20da%20MS](http://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/54/entendendo-a-qualidade-da-sua-silagem#:~:text=PROTE%C3%8DNA%20BRUTA%20(PB),5%20a%2010%25%20da%20MS)>. Acesso em: 04 de novembro de 2020.

PIRES, A. J. V., CARVALHO, G. G. P., GARCIA, R. Fracionamento de carboidratos e proteínas de silagens de capim-elefante com casca de café, farelo de cacau ou farelo de mandioca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 422 - 427, 2009.

RODRIGUES, P. H. M. *et al.* Avaliação do Uso de Inoculantes Microbianos sobre a Qualidade Fermentativa e Nutricional da Silagem de Milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 538 - 545, 2004.

RULQUIN, H.; DELABY, L. Efeitos do balanço de energia de vacas leiteiras sobre as respostas lactacionais à metionina protegida pelo rúmen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2513 - 2522, 1997.

SALMAN, A. K. D. *et al.* **Metodologia para avaliação de ruminantes**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2010. 21 p.

SENGER, C. C. D. *et al.* Composição química e digestibilidade '*in vitro*' de silagens de milho com distintos teores de umidade e níveis de compactação. **Ciência Rural**, v.35, n.6, 2005.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002, 235 pp.

STIEVEN, I. C. B. *et al.* **Exigência e absorção de aminoácidos em bovinos**. Londrina: PUBVET, v. 5, n. 7, 2011.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583 -3597. 1991.

WEINBERG, Z. G. *et al.* Effect of lactic acid bacteria inoculants on in vitro digestibility of wheat and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 10, p. 4754 - 4762, 2007.

WILKINSON, J. M. Silage UK. **Chalcombe Publications**, Marlow Bottom, 1990. 63 ed. 185 p.

ZENEON, O. *et al.* **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 2008.1020 p.

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