



## Efeitos de inoculantes microbianos sobre os ácidos orgânicos de silagens de milho ao longo de períodos de fermentação

**Santiago Alves de Oliveira<sup>1</sup>, Paloma Gabriela Batista Gomes<sup>2</sup>, Gilvânia Avelino da Costa<sup>3</sup>, Anderson Lopes Pereira<sup>4</sup>, Liliane Pereira Santana<sup>2</sup>, Bruno Rocha de Moura<sup>5</sup>, Rubens Olegário da Silva Araújo<sup>6</sup>, Alexandre Carneiro Leão de Mello<sup>7</sup>.**

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, santiagooliveira58@gmail.com; <sup>2</sup>Doutoranda em Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba; <sup>3</sup>Mestranda em Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba; <sup>4</sup>Doutor em Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba; <sup>5</sup>Doutorando em Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba; <sup>6</sup>Graduando em Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba; <sup>7</sup>Docente, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

**RESUMO:** A adição de inoculantes microbianos na ensilagem de milho pode melhorar a qualidade e estabilidade aeróbia da silagem, aumentando a concentração de ácidos orgânicos benéficos e inibindo a atuação de microrganismos indesejáveis. Desta forma, objetivou-se avaliar a influência de inoculantes microbianos sobre a teores de ácidos orgânicos de silagens de milho ao longo de períodos de fermentação. Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizados, arranjado em esquema fatorial (4×5), com quatro períodos de fermentação, cinco inoculantes microbianos, com X repetições. Após a colheita, as plantas foram processadas, ensiladas e inoculadas com microrganismos, com medições do pH, nitrogênio amoniacal e carboidratos solúveis, seguidas de análise estatística por ANOVA. A adição de inoculantes microbianos à silagem de milho pode melhorar a qualidade e estabilidade da silagem.

**Termos de indexação:** ácidos orgânicos, alimentação animal, matéria seca, valor nutritivo.

## Effects of microbial inoculants on organic acids of millet silages over fermentation periods

**ABSTRACT:** The addition of microbial inoculants to millet ensilage can improve the quality and aerobic stability of silage, increasing the concentration of beneficial organic acids and inhibiting the action of undesirable microorganisms. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of microbial inoculants on the organic acid content of millet silages throughout fermentation periods. A completely randomized experimental design was used, arranged in a factorial scheme (4×5), with four fermentation periods, five microbial inoculants, and X replicates. After harvest, the plants were processed, ensiled, and inoculated with microorganisms, with measurements of pH, ammonia nitrogen, and soluble carbohydrates, followed by statistical analysis by ANOVA. The addition of microbial inoculants to millet silage can improve the quality and stability of silage.

**Indexing terms:** organic acids, animal feed, dry matter, nutritional value.

## INTRODUÇÃO

Produção de silagem é uma prática comum na atividade agropecuária, visando à conservação de forragens para alimentação animal (Von Pinho et al., 2007). A qualidade da silagem pode variar de acordo com fatores como a matéria-prima utilizada, o método de ensilagem e a presença de microrganismos.

A adição de inoculantes microbianos pode ser uma estratégia para melhorar a qualidade da silagem, pois esses microrganismos podem influenciar o perfil fermentativo e a estabilidade da silagem (Ferrari Júnior et al., 2001). O perfil fermentativo da silagem de milho pode variar de acordo com o período de fermentação, o que pode afetar a qualidade da silagem. A adição de inoculantes microbianos pode influenciar o perfil fermentativo da silagem de milho, melhorando sua qualidade e estabilidade aeróbia, reduzindo as perdas fermentativas e inibindo a atuação de microrganismos deletérios (Basi et al., 2011).

A composição química da silagem de milho é significativamente influenciada pela produção de ácidos orgânicos, especialmente os ácidos láctico e acético, que são cruciais para a preservação da silagem e a manutenção de sua qualidade nutricional (Júnior et al., 2005). A adição de inoculantes microbianos, particularmente aqueles à base de bactérias ácido-láticas (BAL) heterofermentativas, pode intensificar a produção desses ácidos, resultando em uma melhor conservação e estabilidade da silagem, além de uma maior concentração de compostos benéficos (Costa et al., 2000). Análises laboratoriais, como a determinação dos níveis de ácido láctico, acético, proteína, fibra e carboidratos, são essenciais para avaliar a eficácia desses inoculantes na modificação da composição química da silagem. A adição

de inoculantes microbianos também pode influenciar a estabilidade da silagem (Melo et al., 2016).

Nesse contexto, este estudo levanta a hipótese de que a utilização de inoculantes microbianos hetero fermentativos pode otimizar a produção de ácidos láctico e acético, melhorando a estabilidade e a qualidade da silagem de milho. Logo, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação de diferentes espécies de bactérias ácido-láticas sobre os ácidos orgânicos da silagem de milho ao longo de vários períodos de fermentação, com foco na descoberta de cepas microbianas eficientes em melhorar a qualidade da silagem.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Forragicultura da Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (4x5), com quatro períodos de fermentação (15, 45, 90 e 180 dias após ensilagem), cinco inoculantes microbianos: Controle, não inoculado (CTRL); *Lactiplantibacillus plantarum* (LP); *Weissella cibaria* (WC); Combinação de LP com WC (LP+WC); *Lentilactobacillus buchneri* (LB) com quatro repetições, totalizando 80 unidades experimentais.

O milho forrageiro (*Pennisetum glaucum*) cultivar ADR 300 foi semeado em uma propriedade na zona rural de Areia-PB, com espaçamento de 0,5 m entre linhas, semeando a uma profundidade de 1,0 cm e uma densidade de 180.000 plantas por hectare.

Após a colheita, as plantas foram processadas em uma máquina forrageira, resultando em partículas de aproximadamente 2 cm, que foram então ensiladas em silos experimentais de 3,5 litros. A forragem foi compactada até atingir uma densidade de 500 kg/m<sup>3</sup>, e a anaerobiose foi mantida com tampas vedantes.

Os inoculantes microbianos usados na ensilagem incluíram *Lactiplantibacillus plantarum*, *Weissella cibaria*, isolados da palma forrageira miúda, e *Lentilactobacillus buchneri*, adquirido comercialmente. Os microrganismos foram incubados e reativados antes de serem aplicados uniformemente na forragem fresca. No tratamento controle, utilizou-se água destilada em vez de inoculante.

Para a análise de ácidos orgânicos [ácido láctico (AL), ácido acético (AA) e ácido butírico (AB)], 10 g de cada amostra foram pesados e adicionados a 90 mL de água destilada. As amostras foram homogeneizadas e filtradas. Uma alíquota de 10 mL do filtrado foi adicionada a tubos de ensaio e centrifugada. Ácido metafosfórico foi adicionado e a solução foi centrifugada novamente. O sobrenadante foi acondicionado em microtubos e congelado para análise de ácidos orgânicos por um cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC) (Kung Jr e Ranjit, 2001).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o procedimento PROC GLM do software SAS versão 9.2. O modelo considerou efeitos de período de fermentação, de inoculante e suas interações. Quando verificado efeitos estatisticamente significativos individuais ou da interação estes foram desdobrados, com as médias comparadas utilizando o teste de Tukey, com um nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que a adição de inoculantes microbianos e o período de fermentação afetaram significativamente os teores de AL, AA e AB de silagens de milho (Tabela 1). Houve efeito de inoculante (P=0,0001), período de fermentação (P=0,0001) e interação entre os fatores (P=0,0001) para AL. Aos 15 dias após ensilagem foram observados maiores valores médios para as silagens WC, LP+WC e LB. O AL é normalmente encontrado em concentrações que variam de 20 a 40 g/kg matéria seca (MS) em silagens de X, Y e Z (Kung et al., 2018). Possivelmente as BAL aumentam o teor de AL durante a fermentação por causa de sua capacidade metabólica. Ambas as espécies são capazes de fermentar carboidratos solúveis em água em AL através de vias metabólicas específicas.

A concentração de AA foi influenciada pela inoculação de BAL na ensilagem de milho, as BAL heterofermentativas são capazes de produzir além do AL também o AA como subproduto do metabolismo. Houve efeito de inoculante (P=0,0001) e período de fermentação (P=0,0001), porém não houve efeito de interação (P=0,0590) para a variável AA. Para o fator inoculante foram observados maiores valores médios para as silagens WC, LP+WC e LB. Isso significa que, além de produzir AL, esses tipos de BAL também produzem AA como um subproduto do metabolismo (Okoye et al., 2023). O AA possui ação antifúngica, portanto é possível também associar esse resultado com a diminuição da população de fungos filamentosos e leveduras para os mesmos tratamentos.

A concentração de AB foi influenciada pelos efeitos avaliados. Houve efeito de inoculante (P=0,0012), período de fermentação (P=0,0001) e interação entre os fatores (P=0,0001) para a variável AB. Aos 180 dias de abertura foram observados maiores valores médios para as silagens WC e LB. Silagens de milho possuem alta umidade e, conseqüentemente, menor teor de MS, o que pode ter favorecido a produção de AB pelas cepas utilizadas, em condições específicas de fermentação, como alta umidade, baixa compactação, presença de oxigênio ou pH inadequado (Muck et al. 2018; Kung et al. 2018; Okoye et al. 2023).

**Tabela 1.** Teores de ácidos orgânicos das silagens de milho inoculadas com várias cepas de bactérias ácido lácticas em função dos períodos de fermentação.

Período Fermentação	Inoculante <sup>1</sup>					Média	EPM <sup>2</sup>	P-valor <sup>3</sup>
	CTRL	LP	WC	LP+WC	LB			



(dias)	Ácido lático (g/kg MS)						I	PF	I×PF	
15d	47,6Bab	48,0Ba	57,9Aa	55,5Aa	57,2Aa	53,2a	0,12	<0,0001	<0,0001	<0,0001
45d	51,2Ba	51,5Ba	52,4ABb	57,2Aa	55,2Aba	53,5a				
90d	43,6BCb	48,2Ba	45,7Bc	53,4Aa	40,6Cb	46,4b				
180d	37,6Ac	37,8Ab	14,6Cd	24,9Bb	10,9Cc	25,1c				
Média	45,0BC	46,4AB	42,6CD	47,8A	41,0D					
	Ácido acético (g/kg MS)									
15d	12,5	10,5	13,2	14,3	12,8	12,7b	0,07	<0,0001	0,0007	0,0590
45d	11,2	11,8	12,8	12,3	13,3	12,3b				
90d	11,2	10,4	13,4	14,9	15,9	13,1ab				
180d	13,9	12,3	16,0	13,6	16,1	14,4a				
Média	12,2B	11,2B	13,9A	13,8A	14,5A					
	Ácido butírico (g/kg MS)									
15d	0,7Ab	0,5ABc	0,5ABc	0,5ABc	0,3Bc	0,5c	0,01	0,0012	<0,0001	<0,0001
45d	0,8Ab	0,5Ac	0,7Ac	0,7Ac	0,6Abc	0,6c				
90d	0,9Ab	1,0Ab	1,1Ab	1,1Ab	0,8Ab	1,0b				
180d	2,2Ba	1,8Ba	2,8Aa	2,2Ba	2,8Aa	2,3a				
Média	1,1AB	0,9B	1,3A	1,1AB	1,1AB					

<sup>1</sup>Inoculante: CTRL, Controle (sem inoculante). LP (*Lactiplantibacillus plantarum*). WC (*Weissella cibaria*). LP+WC (*Lactiplantibacillus plantarum* + *Weissella cibaria*). LB (*Lentilactobacillus buchneri*-Lallemand®, Brasil.); <sup>2</sup>EPM, Erro padrão da média; <sup>3</sup>P-valor, Probabilidade de efeitos para Inoculante (I), Período Fermentação (PF) e interação (I×PF). Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) para efeito de I. Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) para efeito de PF.

### CONCLUSÕES

A adição de inoculantes microbianos *Lactiplantibacillus plantarum* (LP); *Weissella cibaria* (WC); Combinação de LP com WC (LP+WC); e *Lentilactobacillus buchneri* (LB) à silagem de milho melhoram a qualidade e estabilidade da silagem. A concentração de ácido lático, ácido acético e ácido butírico foi influenciada pela adição de inoculantes microbianos e pelo período de fermentação. A produção de ácido lático e ácido acético foi associada à capacidade metabólica das bactérias.

### REFERÊNCIAS

- BASI, S. et al. Influência da adubação nitrogenada sobre a qualidade da silagem de milho. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 4, n. 3, p. 1-14, 2011.
- COSTA, C. et al. Potencial para ensilagem, composição química e qualidade da silagem de milho com diferentes proporções de espigas. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 3, p. 835-841, 2000.
- DÓREA, J. R. R. et al. Composição bromatológica e dinâmica de fermentação da silagem de jaca. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1967-1975, 2013.
- FERRARI JÚNIOR, E.; LAVEZZO, W. Qualidade da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) emurcheado ou acrescido de farelo de mandioca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1424-1431, 2001.
- JÚNIOR, E. F. et al. Características agrônômicas, composição química e qualidade de silagem de oito cultivares de milho. **Boletim de Indústria Animal**, v. 62, n. 1, p. 19-27, 2005.
- KUNG, L. J. R.; RANJIT, N. K. O efeito do *Lactobacillus buchneri* e outros aditivos na fermentação e estabilidade aeróbica da silagem de cevada. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 5, p. 1149-1155, 2001.
- KUNG, L. J. R. et al. Revisão de silagem: interpretação dos componentes químicos, microbianos e organolépticos das silagens. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 4020-4033, 2018.

### III SIMPÓSIO DE CONSERVAÇÃO DE FORRAGENS - SICONFOR



MELO, M. J. A. F. et al. Características fermentativas e composição química da silagem de capim tanzânia com aditivos. **Boletim de Indústria Animal**, v. 73, n. 3, p. 189-197, 2016.

MUCK, R. E. et al. Silage review: recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980-4000, 2018.

RIBEIRO, C. G. M. et al. Padrão de fermentação da silagem de cinco genótipos de sorgo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 1531-1537, 2007.

VON PINHO, R. G. et al. Produtividade e qualidade da silagem de milho e sorgo em função da época de semeadura. **Bragantia**, v. 66, p. 235-245, 2007.