



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**EFEITO DO SUCO FERMENTADO DE MILHO COMO BIOINOCULANTE EM  
SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**MRELLA ALMEIDA DA SILVA**

**PATOS-PB  
FEVEREIRO 2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**EFEITO DO SUCO FERMENTADO DE MILHO COMO BIOINOCULANTE EM  
SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR**

MIRELLA ALMEIDA DA SILVA  
ENGENHEIRA AGRÔNOMA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração: Avaliação de Alimentos e Nutrição Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra  
**Co-orientador:** Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva  
Prof. Dr. Ricardo Loila Edvan

**PATOS-PARAÍBA-BRASIL  
FEVEREIRO 2019**

S586e Silva, Mirella Almeida da.  
Efeito do suco fermentado de milho como bioinoculante em silagem de cana-de-açúcar / Mirella Almeida da Silva. – Patos, 2019.  
43 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra; Coorientação: Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva, Prof. Dr. Ricardo Loiola Edvan".

Referências.

1. Inoculante. 2. Microrganismos. 3. Leveduras. 4. *Saccharumofficinarum*. I. Bezerra, Leilson Rocha. II. Silva, Aderbal Marcos de Azevedo. III. Edvan, Ricardo Loiola. IV. Título.

CDU 616-022.1(043)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECÁRIA MARIA ANTONIA DE SOUSA CRB 15/398



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO


TÍTULO: "Efeito do suco fermentado de milho como bioinoculante em silagem de cana-de-açúcar"

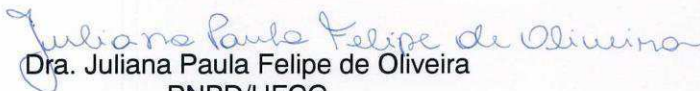
AUTORA: Mirella Almeida Da Silva

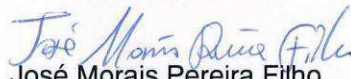
ORIENTADOR: Dr. Leilson Rocha Bezerra

JULGAMENTO


CONCEITO: APROVADO

  
Dr. Leilson Rocha Bezerra  
UAMV/UFCA  
Presidente

  
Dra. Juliana Paula Felipe de Oliveira  
PNPD/UFCA  
1º Examinadora

  
Dr. José Morais Pereira Filho  
UAMV/UFCA  
2º Examinador

Patos - PB, 21 de fevereiro de 2019

  
Prof. Dr. José Fábio Paulino de Moura  
Coordenador PPGCA/CSTR/UFCA  
Mat. SIAPE 1506549  
Coordenador

## Epígrafe

(...)

Mãe, eu sei que tive sorte,  
Que a jornada é difícil  
Mas com tanto sacrifício  
Eu aprendi a ser forte  
Sem Deus não há quem  
suporte  
Passar pelo tempo ruim  
Consegui, passei, em fim  
Me sinto realizado  
Minha mãe, muito obrigado  
Por ter rezado por mim.

Painha, essa lucidez  
E a nossa fraternidade  
Garanto, mais da metade  
Eu aprendi com você  
Tirar da feira de mês  
Para que eu levasse um  
bocado  
E ainda me dava um trocado  
Embora ficasse liso  
É por isso que eu preciso  
Lhe dizer, muito obrigado!

A mão de Deus abençoa  
Tudo quanto o homem faz  
Sabendo que ele é capaz  
De ter atitude boa  
Até os erros perdoa,  
Lhe conduzindo para a trilha  
Por isso meu mundo brilha,  
Eu sei do lugar que venho  
Toda vitória que tenho  
Dedico à minha família!

(Poeta Marquinhos da  
Serrinha)

## **Dedico**

A Deus, pelas graças a mim concedidas e por sua Divina providência.

Aos meus pais, Bernadete Gomes da Silva Pinto e José Erivonaldo Pinto de Almeida, pela força, exemplo e dedicação.

Ao meu avô (*in memoriam*) Edízio Pinto do Nascimento por todos os ensinamentos.

Ao meu amigo Marcos Antônio Queiroz Gomes (*in memoriam*) pela cumplicidade.

## **Agradecimentos**

A Deus por toda misericórdia, sustento e luz. Sem Ele nada sou.

À minha família por ser meu alicerce, por sempre me apoiar, me ajudar, me fortalecer. Obrigada, pai, mãe, Maristela, Mércia, Luíz Augusto, Vó Marlene, Vô Pinto, vó Mariinha, vô Irineu, tia Marley, tio Toin, e demais.

Aos meus amigos por estarem sempre presentes, me ajudando, torcendo por mim e me corrigindo. Estaremos sempre juntos, Érika, Jainne, Joseane, Juninho, Maciel e Samuel.

A Filipe Jefferson por todo incentivo dado a minha vida acadêmica/profissional.

A Antônio e Fábio por me convencerem a fazer a pós-graduação e pela convivência desde a graduação até a busca do título de mestre.

Aos companheiros dessa caminhada, mestrandos ingressos nas turmas 2017.1 e 2018.1, que juntos sorrimos e choramos, mas não desistimos.

A Damião Pinto por facilitar meu deslocamento semanalmente.

A todos os professores que me encaminharam nessa jornada acadêmica, desde o ensino infantil até o terceiro grau, aprendi não só com os conteúdos repassados, mas também com o exemplo de vida de cada um.

Ao meu orientador, professor Leilson, por todo ensinamento, paciência, confiança e insistência em minha pessoa.

Aos professores Moraes e Ricardo Loiola por todo empenho e doação.

Ao CPCE/UFPI e aos colegas de tal instituição pelo auxílio no experimento.

Ao laboratório de nutrição da UFCG/CSTR pela disponibilidade.

A Ari por toda atenção e dedicação para com o PPGCA.

À FAPESQ pela concessão da bolsa de estudos.

E a toda UFCG.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL</b> .....	viii
<b>Abstract</b> .....	ix
<b>Lista de tabelas</b> .....	x
<b>Lista de figuras</b> .....	xi
<b>Lista de Abreviatura, Siglas e Símbolos</b> .....	xii
<b>Introdução geral</b> .....	5
<b>Referências</b> .....	8
<b>CAPÍTULO 01</b> .....	5
<b>RESUMO</b> .....	6
<b>ABSTRACT</b> .....	6
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	9
<b>RESULTADOS</b> .....	15
<b>DISCUSSÃO</b> .....	18
<b>CONCLUSÃO</b> .....	21
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	23
<b>CAPÍTULO 02</b> .....	26
<b>RESUMO</b> .....	27
<b>ABSTRACT</b> .....	27
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	28
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
<b>RESULTADOS</b> .....	34
<b>DISCUSSÃO</b> .....	36
<b>CONCLUSÃO</b> .....	39
<b>REFERENCIAS</b> .....	40
<b>Conclusão geral</b> .....	43



## RESUMO GERAL

Com esse estudo objetivou-se avaliar o efeito de doses de bioinoculante de suco fermentado de milho sobre a fermentação e qualidade físicoquímica da silagem de cana-de-açúcar. Para o teste de degradabilidade o delineamento experimental utilizado foi o de blocos com parcelas subdivididas e para as demais análises utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram de cinco proporções do suco fermentado da planta de milho (0, 200, 400, 800 e 1600 ml t<sup>-1</sup>) na silagem de cana-de-açúcar. A maior perda por efluentes, bem como por gases, se deu na silagem controle (0 ml t<sup>-1</sup>), havendo diferença em comparação com as bioinoculadas ( $P < 0,05$ ), conseqüentemente, a recuperação da matéria seca foi estatisticamente menor na silagem sem bioinoculante ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa em relação aos valores de N-NH<sub>3</sub> (%NT). Houve efeito linear crescente ( $P < 0,01$ ) do tempo de exposição ao ar sobre a temperatura superficial da silagem. Houve interação entre o tempo de exposição ao ar. Para temperatura interna, onde a maior temperatura foi obtida na silagem de cana-de-açúcar sem o bioinoculante, causando a quebra da estabilidade aeróbia após as 31 horas e 50 minutos. A adição do bioinoculante aumentou ( $P < 0,05$ ) a concentração de matéria seca (MS) sem influenciar na quantidade de fibras insolúveis em detergente ácido (FDN). Houve incremento ( $P < 0,05$ ) na quantidade de carboidratos não fibrosos (CNF) nas silagens bioinoculadas. A inoculação com suco fermentado de milho diminuiu ( $P < 0,05$ ) a quantidade de ácido butírico, manteve ( $P > 0,05$ ) a quantidade de ácido lático, acético e propiônico em concentrações ideais para a silagem. O bioinoculante manteve a população microbiana semelhante à da forragem da planta de milho e não houve diferença entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). Todos os tratamentos apresentaram baixa degradabilidade, porém os melhores valores foram nas silagens bioinoculadas. A utilização do suco fermentado de milho propiciou uma silagem de cana-de-açúcar de melhor qualidade em comparação ao tratamento controle, sendo a dose de 200 ml t<sup>-1</sup> a que apresentou resultados mais satisfatórios, podendo ser indicada para melhoria da silagem.

Palavras-chave: Inoculante, microrganismos, leveduras, *Saccharum officinarum*

## **Abstract**

This study aimed to evaluate the effect of bioinoculant doses of fermented corn juice on the fermentation and the physicochemical quality of sugarcane silage. For the degradability test the experimental design was of blocks with subdivided plots and for the other analyzes the completely randomized design was used. The treatments consisted of five proportions of the fermented juice of the corn plant (0, 200, 400, 800 and 1600 ml t<sup>-1</sup>) in sugarcane silage. The highest loss by effluents, as well as by gases, occurred in the control silage (0 ml t<sup>-1</sup>), with a difference in comparison with the bioinoculants (P <0.05), consequently the dry matter recovery was statistically lower in the silage without bioinoculant (P <0.05). There was no significant difference in relation to N-NH<sub>3</sub> values (% NT). There was an increasing linear effect (P<0.01) of air exposure time on the silage surface temperature. For the internal temperature of the silage there was interaction with the time of exposure to air, where the highest temperature was obtained in the sugarcane silage without the bioinoculant, causing the aerobic stability to break after the 31 hours and 50 minutes. The addition of the bioinoculant increased (P<0.05) the dry matter (DM) concentration without influencing the amount of acid detergent insoluble fibers (NDF). There was an increase (P<0.05) in the amount of non-fibrous carbohydrates (CNF) in bioinoculated silages. The inoculation with fermented corn juice decreased (P<0.05) the amount of butyric acid, the amount of lactic, acetic and propionic acid in ideal concentrations for silage. The bioinoculant kept the microbial population similar to that of corn planting and there was no difference between the treatments (P> 0.05). All treatments presented low degradability, but the best values were in the bioinoculated silages. The use of the fermented corn juice provided a better quality of sugarcane silage compared to the control treatment, and the 200 ml t<sup>-1</sup> dose presented the most satisfactory results and could be indicated for silage improvement.

Key words: Inoculant, microorganisms, yeasts, *Saccharum officinarum* L.

## Lista de tabelas

### Capítulo 01

<b>Tabela 1.</b> Análise química do solo da área onde foi realizado o plantio do milho .....	10
<b>Tabela 2.</b> Composição química da cana-de-açúcar usada como silagem e do milho que foi extraído o suco fermentado para bioinoculante. ....	11
<b>Tabela 3.</b> Composição química de silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, expressos em g kg <sup>-1</sup> MSa.....	14
<b>Tabela 4.</b> Ácidos graxos voláteis e etanol da silagem de cana-de-açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, expressos em g kg <sup>-1</sup> MS.....	15

### Capítulo 02

<b>Tabela 1.</b> Análise química do solo da área onde foi realizado o plantio do milho .....	29
<b>Tabela 2.</b> Composição química da cana-de-açúcar usada como silagem e do milho que foi extraído o suco fermentado para bioinoculante. ....	30
<b>Tabela 3.</b> Perdas da silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho. ....	33
<b>Tabela 4.</b> Nitrogênio amoniacal na silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, expressos em g kg <sup>-1</sup> MS .....	33
<b>Tabela 5.</b> Desdobramento, médias, significância e análise de variância da estabilidade aeróbia de silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, após abertura e exposição ao ar em ambiente com temperatura controlada .....	34

## **Lista de figuras**

### **Capítulo 01**

**Figura 1.** Valores de contagem de microrganismos em planta de milho, suco fermentado de silagem de milho (30 dias) e silagem de cana-de-açúcar sem e com diferentes quantidades de suco fermentado de silagem de milho na abertura. BAL: bactérias do ácido láctico ..... 17

**Figura 2.** Degradabilidade Potencial (DP) da silagem de cana-de-açúcar bioinoculada com suco fermentado de milho em função do tempo de permanência no rúmen (h). ..... 18

## **Lista de Abreviatura, Siglas e Símbolos**

% – percentual

( $P < 0,05$ ) – significância inferior a 5%

( $P > 0,05$ ) – significância superior a 5%

AGVs – ácidos graxos voláteis

BAL – bactérias do ácido láctico

CNF – carboidratos não-fibrosos

CO<sub>2</sub> – símbolo da molécula de gás carbônico

CSTR – Centro de Saúde e Tecnologia Rural

DP – degradabilidade potencial

Dr. – Doutor

EE – extrato etéreo

ENT – enterobactéria

EPM – erro-padrão da média

FAPESQ – Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba

FDN – fibra em detergente neutro

g – grama

g kg<sup>-1</sup> – grama por quilograma

h – hora

MF – massa fresca

mg – miligrama

ML – mofo e levedura

MN – matéria natural

MS – matéria seca

N – nitrogênio

NH<sub>3</sub> – nitrogênio amoniacal

N-NH<sub>3</sub>/ %NT – nitrogênio amoniacal em relação ao percentual de nitrogênio total

NRC – National Research Council

NT – nitrogênio total

°C – grau celsius

PB – Paraíba

PB – proteína bruta

pH – potencial hidrogeniônico  
PPGZ – Programa de Pós-graduação em Zootecnia  
Prof. – Professor  
P-valor – valor de significância  
PVC – policloreto de vinila  
RMS – recuperação de matéria seca  
RPM – rotações por minuto  
SAS – statistical analysis system  
t – tonelada  
TNT – tecido não tecido  
ufc – unidade formadora de colônia  
UFCG – Universidade Federal de Campina Grande  
UFPI – Universidade Federal do Piauí

## **Introdução geral**

Regiões tropicais são caracterizadas por possuírem índices pluviométricos abaixo de 800 mm por ano (COSTA et al., 2015), com clima bastante característico, apresentando duas estações distintas, uma chuvosa com aproximadamente quatro meses e uma estação de estiagem que dura aproximadamente oito meses. Essas condições climáticas causam sazonalidade temporal também na oferta de forragem, tornando indispensável o uso de técnicas para conservação de alimentos para os animais, evitando assim a escassez dos mesmos no período seco e mantendo uma constância no nível de produção nas duas estações. As técnicas mais utilizadas para conservar forragem são a fenação e a ensilagem, as quais visam o armazenamento de alimentos buscando evitar perdas e manter a qualidade nutritiva.

Silagem é o produto final de uma fermentação anaeróbia, onde bactérias lácticas consomem principalmente açúcares disponíveis na forragem ensilada, e produzindo ácidos orgânicos (ácidos láctico, acético e butírico) que abaixam o pH e mantém a forragem conservada por um determinado período de tempo. Esse período de conservação depende da manutenção da condição anaeróbia, ou seja, de não permitir entrada de ar e água dentro do silo através de uma adequada vedação.

Uma alternativa de planta forrageira muito utilizada na ensilagem é a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), apresentando como principais vantagens a facilidade do cultivo, a redução da onerosidade, já que descarta a mão-de-obra diária para o corte, despalhamento, picagem e transporte, otimizando assim as atividades e minimizando os custos, a alta produção de matéria seca por hectare e alto conteúdo energético por unidade matéria seca produzida (MIRANDA et al., 2011).

No entanto, a silagem de cana-de-açúcar pode apresentar um grande número de perda de massa de forragem devido a fermentações indesejáveis no processo de ensilagem. A solução para esse problema seria a utilização de inoculantes que proporcionem fermentações benéficas à conservação. Na silagem de cana-de-açúcar os aditivos são usados para reduzir as perdas em detrimento da fermentação alcoólica.

Os inoculantes utilizados atualmente na silagem dessa forrageira são aditivos químicos como ácidos uréia, cal e sorbato de potássio e hidróxido de sódio.

A busca por novos aditivos ou por combinações de produtos que apresentem efeito sinérgico na prevenção de perdas durante a ensilagem de cana-de-açúcar mantém-se em destaque entre as pesquisas sobre forragens conservadas no Brasil, com intuito de elevar o número de informações que esclareçam a dinâmica fermentativa desse material (SCHMIDT et al., 2011).

Atualmente tem-se visto um grande interesse no uso de inoculantes microbiológicos, que basicamente são constituídos por bactérias lácticas homofermentativas (*Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecium* e *Pediococcus acidilactici*), e visam o aumento da população inicial disponível na forragem para aceleração do processo de produção de ácidos orgânicos, e conseqüente queda do pH do produto final, a silagem (PEDROSO et al., 2000; LUDOVICO et al., 2014; CARDOSO et al., 2017; MORAIS et al., 2017).

Apesar de ser comum o uso de inoculantes na silagem, ainda são poucos os trabalhos usando inoculantes naturais ou bioinoculantes. Neste sentido, o milho (*Zea mays*) possui características químicas que o tornam ideal para o uso como inoculante de ensilagem por estimular o crescimento de bactérias ácido-láticas e promover queda mais acentuada do pH da silagem e rápido acúmulo de ácido láctico (ASSIS, et al., 2014). evitando perdas e melhorando a qualidade da silagem de cana-de-açúcar, além de ter alta concentração de carboidratos solúveis na matéria original e baixo poder tampão.

Apesar de o crescimento de leveduras não ser inibido pelos baixos níveis de pH durante o processo de ensilagem (McDONALD et al., 1991), o aumento da população inicial de bactérias ácido-láticas aumenta a competição por substrato entre os microrganismos, inibindo o desenvolvimento das leveduras em condições anaeróbicas.

Dessa forma, a utilização do suco fermentado de milho como bioinoculante em silagem de outras plantas, como aditivo natural, pode ser uma alternativa para melhorar a qualidade fermentativa de silagens de espécies



fORAGEIRAS de baixa qualidade fermentativa, como é o caso da silagem de cana-de-açúcar. Isto poderá incrementar a produtividade dos rebanhos durante todo o ano com a disponibilidade de alimento, principalmente no período seco. Assim, o uso de bioinoculante de suco fermentado de milho na silagem de cana-de-açúcar poderá promover uma economia ao produtor rural, pois não precisará comprar inoculantes comercializados a altos custos.

## **Referências**

ASSIS, F. G. V. et al. New inoculants on maize silage fermentation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, n. 8, p. 395-403, 2014.

CARDOSO, L. L. et al. Chemical composition and production of ethanol and other volatile organic compounds in sugarcane silage treated with chemical and microbial additives. **Animal Production Science**, 2017.

COSTA, M. S.; et al. Tendências observadas em extremos de precipitação sobre a região Semiárida do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, n. 5, p. 1321-1334, 2015.

LUDOVICO, A. et al. Chemical composition and losses of nutrients involved in sugarcane ensiling with microbial and chemical additives. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 22, n. 3-4, p 61-67, 2014.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of the silage**. Edinburgh: J. Wiley and Sons, p. 226, 1991

MIRANDA, D. C.; JÚNIOR, G. S. D.; LOPES, F. et al. Composição e pH de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químicos e microbiológicos. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 54, n. 2, p.122-130, 2011.

MORAES, R. L. et al. Silagem de cana-de-açúcar tratada com inoculantes microbianos e suas misturas. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.7, n.3, p.76-83, 2017.

PEDROSO, A. F.; FREITAS, A. R.; SOUZA, G. B. Efeito de Inoculante Bacteriano sobre a Qualidade da Silagem e Perda de Matéria Seca durante a Ensilagem de Sorgo. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 48-52, 2000.

SCHMIDT, P. et al. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 543-549, 2011.

## **CAPÍTULO 01**

---

**Efeitos do suco fermentado de milho como bioinoculante sobre a características físicoquímicas, perfil microbiológico e degradabilidade *in situ* da silagem de cana-de-açúcar**

**Efeitos do suco fermentado de milho como bioinoculante sobre a características físicoquímicas, perfil microbiológico e degradabilidade *in situ* da silagem de cana-de-açúcar**

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar os efeitos da adição de bioinoculante do suco fermentado de milho na composição química, perfil microbiológico, degradabilidade, teor de etanol e ácidos graxos voláteis presentes na silagem de cana-de-açúcar. Para o teste de degradabilidade, o delineamento experimental utilizado foi o de blocos com parcelas subdivididas e para as demais análises foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, todos com cinco tratamentos (0, 200, 400, 800 e 1600 ml t<sup>-1</sup>). A adição do bioinoculante aumentou ( $P<0,05$ ) a concentração de matéria seca (MS) sem influenciar na quantidade de fibras insolúveis em detergente ácido (FDN). Houve incremento ( $P<0,05$ ) na quantidade de carboidratos não fibrosos (CNF) nas silagens bioinoculadas. A inoculação com suco fermentado de milho diminuiu ( $P<0,05$ ) a quantidade de ácido butírico, manteve ( $P>0,05$ ) a quantidade de ácido lático, acético e propiônico em concentrações ideais para a silagem. O bioinoculante manteve a população microbiana semelhante à da forragem da planta de milho e não houve diferença entre os tratamentos ( $P>0,05$ ). Todos os tratamentos apresentaram baixa degradabilidade, porém os melhores valores foram nas silagens bioinoculadas. A utilização do suco fermentado de milho propiciou uma silagem de cana-de-açúcar de melhor qualidade em comparação ao tratamento controle, sendo a dose de 200 ml t<sup>-1</sup> a que apresentou resultados mais satisfatórios.

**PALAVRAS-CHAVE:** ácidos, inoculante, matéria seca, microorganismos, leveduras

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the effects of the bioinoculant addition of corn fermented juice on the chemical composition, microbiological profile, degradability, ethanol content and volatile fatty acids present in sugarcane silage. For the degradability test, the experimental design was of blocks with subdivided plots and for the other analyzes, a completely

randomized design was used, all with five treatments (0, 200, 400, 800 and 1600 ml t<sup>-1</sup>). The addition of the bioinoculant increased the dry matter (DM) concentration without influencing the amount of acid detergent insoluble fibers (NDF). There was an increase for carbohydrates (CNF) in bioinoculated silages. The inoculation with fermented corn juice decreased the amount of butyric acid, maintaining the amount of lactic, acetic and propionic acid at ideal concentrations for silage. The bioinoculant kept the microbial population similar to that of corn plantings and there was no difference between the treatments. All treatments presented low degradability, but the best values were in the bioinoculated silages.

**KEYWORDS:** acids, inoculant, dry matter, microorganisms, yeast.

## INTRODUÇÃO

A eficiência na produção animal depende, em grande parte, de medidas racionais relativas ao manejo alimentar. Na produção de ruminantes a pasto, um dos grandes problemas enfrentados pelos pecuaristas diz respeito à estacionalidade na produção de forragem, tornando assim indispensável o uso de técnicas para conservação de alimentos. Essa estratégia visa evitar grandes oscilações no fornecimento de alimento aos animais ao longo do ano, mantendo assim o nível de produção nas duas estações. Além disso, a baixa disponibilidade forrageira, principalmente no período de estiagem contribui com uma redução na produtividade dos rebanhos, sendo responsável pela queda acentuada da produção leiteira, perda de peso dos animais de corte e grande variação da capacidade de suporte dos pastos.

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é um recurso forrageiro tradicionalmente utilizado para ruminantes, principalmente no período seco, em áreas subtropicais e tropicais. Suas vantagens incluem: 1) adaptação aos ambientes tropicais e subtropicais, 2) menor sensibilidade do que outras culturas à baixa fertilidade do solo, clima quente-úmido e problemas com insetos e doenças, 3) tecnologia existente para sua produção, 4) alta capacidade de rendimento, e 5) a capacidade única de manter qualidade consistente como uma cultura permanente no campo (ROMAN et al., 2011;

SIQUEIRA et al., 2012).

A grande difusão da cana-de-açúcar como volumoso suplementar para os animais durante o período seco baseia-se na facilidade e tradição de cultivo e, sobretudo, por constituir-se em opção competitiva quando comparada a outras fontes de volumosos. Aliada a evolução técnica da utilização da silagem de cana-de-açúcar, as análises econômicas têm sido favoráveis à sua utilização, quando comparada com a utilização de silagens de milho, sorgo ou capim (ROMAM et al., 2011; RESENDE et al., 2005). Entretanto, há muitas recomendações para que esta não seja indicada como alimento para animais de alto potencial genético, tendo em vista limitações relativas ao baixo teor de proteína bruta e de minerais e fibra de baixa qualidade sendo assim necessário o estabelecimento de limites para sua utilização, principalmente por ser muitas vezes responsável pela redução consumo dos animais refletindo diretamente no desempenho (SIQUEIRA et al., 2012). Outro fator negativo apontado é a confecção da silagem de cana-de-açúcar devido à intensa fermentação alcoólica quando a forragem é ensilada pura. Isso ocorre em função da grande população de leveduras naturalmente presente na cana-de-açúcar no momento da ensilagem (KUNG e STANLEY, 1982; SANTOS et al., 2009).

Em virtude disso, surge como alternativa para melhoria da qualidade da silagem de cana, a adição de fontes de carboidratos que induzem a uma redução da exigência de carboidratos solúveis, garantindo processo fermentativo satisfatório, impedindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e tornando a silagem de gramíneas tropicais um alimento de valor nutricional adequado e de baixo custo de produção (ROTH et al., 2010). Apesar de ser comum o uso de inoculantes na silagem, ainda são poucos os trabalhos usando inoculantes naturais ou bioinoculantes. Neste sentido, hipotetiza-se que o suco fermentado da planta de milho (*Zea mays*) possui características químicas que o tornam ideal para o uso como bioinoculante no momento da ensilagem por estimular o crescimento de bactérias ácido-láticas e promover queda mais acentuada do pH da silagem e rápido acúmulo de ácido lático (ASSIS et al., 2014), evitando perdas e melhorando a qualidade da silagem de

cana-de-açúcar, além de ter alta concentração de carboidratos solúveis na matéria original e baixo poder tampão.

Assim, objetivou-se avaliar a composição química, perfil microbiológico, degradabilidade, teor de etanol e ácidos graxos voláteis presentes na silagem de cana-de-açúcar bioinoculada com diferentes quantidades de suco fermentado de milho.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Comitê de ética**

Este experimento foi realizado em estrita concordância com as recomendações do Guia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Defesa Animal Experimentos da Universidade Federal do Piauí, Estado do Piauí, Brasil (Número de Permissão: 016-14)

### **Local**

O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal do Piauí, *Campus* Professora Cinobelina Elvas, município de Bom Jesus – PI, Semiárido Piauiense. De acordo com a classificação de Köppen, a região apresenta Clima de Savana Tropical (Aw), com duas estações bem definidas: a estação seca, que se estende de maio a outubro; e a estação chuvosa, que se estende de novembro a abril. Localizado nas coordenadas geográficas 09°04'28''S, 44°21'31''W, na altitude média de 277 m, com precipitação média entre 900 a 1200 mm/ano e temperatura média de 26,2 °C (RAMOS et al., 2009).

### **Delineamentos experimental e tratamentos**

O delineamento utilizado para análise da composição química, perfil microbiológico, ácidos graxos e etanol foi inteiramente casualizado em que os tratamentos consistiram de cinco proporções do suco fermentado da planta de milho (0, 200, 400, 800 e 1600 ml t<sup>-1</sup>) em silagem de cana-de-açúcar com cinco repetições. O tratamento controle correspondeu à silagem sem o suco. Para o teste de degradabilidade, o delineamento experimental utilizado foi o de blocos com parcelas subdivididas, no qual os dois animais representaram os blocos;

as silagens bioinoculadas as parcelas e os sete horários de incubação dos alimentos no rúmen, as sub-parcelas.

### Cultivo e produção da silagem

Na área experimental de cultivo do milho (híbrido de BAS) e de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) foi realizada a coleta representativa de solo de 0-20 cm. Após a coleta, a amostra foi enviada ao laboratório de Centro de Análise de Solos do *Campus* Professora Cinobelina Elvas (CPCE) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os resultados obtidos na análise de solo estão apresentados na Tabela 1 e embasaram o cálculo de adubação da área.

**Tabela 1.** Análise química do solo da área onde foi realizado o plantio do milho

pH	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	t	T	V	M
H <sub>2</sub> O	-----mg/dm <sup>3</sup> -----			-----cmol/dm <sup>3</sup> -----					%			
5,3	15,71	116,9	-	1,76	0,48	0,00	0,17	4,32	4,32	7,52	66,08	0,0

\*pH em água – relação 1:2,5; P – K – Na – extrator Mehlich 1; Ca – Mg – Al – extrator KCl 1 mol/L; H+Al – Extrator SMP; SB – Soma de Bases Trocáveis; t – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; T – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva a pH 7,0; V :Índice de Saturação de Bases; M: Índice de Saturação de Alumínio.

As plantas de cana-de-açúcar foram cultivadas em janeiro de 2016, em sistema de sequeiro, e foi realizado corte de uniformização no plantio em setembro de 2016, para a planta ser colhida com 10 meses. O corte de uniformização da área de cana-de-açúcar foi realizado com facão de 40 cm a uma altura de resíduo de 10 cm acima do solo. O cultivo do milho foi realizado em março de 2017 na mesma área experimental. Em ambos os cultivos foram aplicados 40 kg de fósforo ha<sup>-1</sup> (superfosfato simples, 18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 11% de S e 18% de Ca) e com 30 dias após o plantio (milho) e após o corte de uniformização (cana-de-açúcar) foi aplicado 120 kg de nitrogênio ha<sup>-1</sup> (uréia, 45% de N). Não foi necessário fazer correção do solo nem adubação com potássio, pois de acordo com a Tabela 1, os valores químicos presentes no solo atendiam as espécies, de acordo com Martha Jr et al. (2007).

Para produção do bioinoculante a planta do milho foi cortada e triturada quando chegou ao estádio R4 (grão farináceo). A coleta do material foi feita no dia da picagem, sendo retiradas 500 gramas da planta de milho, a qual foi processada em liquidificador, o líquido coletado foi coado, adicionadas 500



gramas de glucose de milho e água esterilizada até completar 2 litros da mistura. Posteriormente, a solução foi armazenada em garrafa plástica tipo PET (poli tereftalato de etila) de dois litros, devidamente esterilizada. Foi realizada uma adaptação na tampa da garrafa com uma válvula de bunsen para liberação dos gases produzidos. A garrafa com o suco foi armazenada por 35 dias a sombra em condições ambiente. A silagem avaliada foi de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). Para picagem do material foi utilizada máquina de ensilagem estacionária regulada para corte de partícula de 2-3 cm. A cana-de-açúcar picada recebeu o bioinoculante por meio de pulverização.

Foram confeccionados mini silos de balde com capacidade de 3,0 kg de armazenamento de silagem. As silagens foram armazenadas com densidade média de 507 kg/m<sup>3</sup>. Para caracterização da silagem foi analisada a forragem *in natura* e o produto da silagem após 112 dias do ensilamento, através das seguintes variáveis: teor de etanol e ácidos orgânicos (ácido láctico, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico), degradabilidade ruminal, contagem de população microbiana e composição química. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Microbiologia e de Nutrição Animal do CPCE/UFPI, no município de Bom Jesus, Piauí.

### **Determinação da composição química**

As amostras da cana-de-açúcar e do milho *in natura* (Tabela 2) e das silagens (Tabela 3) foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas em freezer para posteriores análises. As amostras foram colocadas em sacos de papel, identificadas, pesadas e submetidas à pré-secagem em estufa de circulação forçada a 55°C por 72 horas e, posteriormente, moídas em moinho de facas tipo Willey com peneira com crivo de 1,0 mm. As análises laboratoriais foram realizadas em triplicata para determinar a composição química seguindo as recomendações da AOAC (1990) quanto aos teores de matéria seca (método 967.03), cinzas (método 942.05), proteína bruta (método 981.10) e extrato etéreo (método 920.29). A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas usando os métodos de Van Soest et al. (1991) com a modificação proposta por Senger et al. (2008) para usar uma autoclave. A temperatura da autoclave foi ajustada para 110 °C

durante 40 min. Os carboidratos não-fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com Weiss (1999), como:  $CNF (g/kg) = 1000 - (FDN + PB + EE + cinzas)$ .

**Tabela 2.** Composição química da cana-de-açúcar usada como silagem e do milho que foi extraído o suco fermentado para bioinoculante

Composição química (g kg <sup>-1</sup> de DM)	Ingredientes	
	Cana-de-açúcar	Milho
Matéria seca (g kg <sup>-1</sup> de alimento)	257	332
Proteína bruta	39,8	79,4
Fibra em detergente neutro	490	562
Fibra em detergente ácido	408	278
Material mineral	1,49	4,59
N-NH <sub>3</sub> (%NT) <sup>a</sup>	3,10	2,78
pH	5,64	5,20
Extrato etéreo	6,36	31,6
Carboidratos não fibrosos	462	322

<sup>a</sup>N-NH<sub>3</sub>= Nitrogênio amoniacal em relação à porcentagem de nitrogênio total.

### Determinação da degradabilidade *in situ*

Para avaliação da degradabilidade da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN) das silagens bioinoculadas foi utilizada a técnica *in situ* por meio de sacos de fibra sintética do tipo tecido não tecido (TNT) de 5 × 6 cm (100 mm de gramatura) na quantidade de aproximadamente 1,3 g de MS/saco para manter uma proporção próxima de 20 mg de MS/cm<sup>2</sup> de área de superfície do saco, conforme Nocek (1988). Foram pesados 1,5 gramas de amostras pré-seca em cada saco, em seguida foram lacrados em uma seladora, colocados em sacos de tecido sintético poroso (filó) e presos em um barbante durante todo o período de incubação.

Para a incubação foram utilizados dois ovinos mestiços, com idade média de dois anos e 45 ± 2,5 kg de peso vivo, com fístula no rúmen. Os animais foram alojados em baias individuais, com 1,10 m de largura e 2,10 de comprimento, com piso cimentado e providas de bebedouro e comedouro.

Todos os animais tiveram acesso a cana-de-açúcar, silagem de milho e água *ad libitum* em dois períodos, às 8:00 e às 17:00 horas.

Os períodos de incubação corresponderam aos tempos de 0, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. Os sacos foram colocados em ordem inversa e em quadruplicata para serem retirados todos ao mesmo tempo, promovendo lavagem uniforme do material na ocasião da retirada do rúmen. Após o período de incubação total de 96 horas, todos os sacos foram retirados do rúmen, lavados em água corrente e submetidos, então, à secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C por 72 horas.

Após a pré-secagem os sacos foram levados para estufa a 105°C por 2 horas e depois pesados para obtenção da MS não degradada. A percentagem de degradação da MS e FDN, em cada tempo, foram determinado segundo AOAC (1990) e Van Soest et al. (1991), respectivamente, e os dados de degradabilidade *in situ* foram obtidos pela diferença de peso encontrada para cada componente entre as pesagens feitas antes e após a incubação ruminal e expressos em porcentagem.

### **Determinação dos ácidos graxos voláteis (AGVs)**

Para a determinação das concentrações de ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) e etanol, foram pesados 10g de cada silagem em triplicata, adicionou-se 90 ml de água destilada, homogeneizando em um liquidificador durante 1 min e depois se filtrou em uma peneira de malha fina coberta com gaze. Posteriormente, foi retirada uma amostra de 10 ml do filtrado, que foram colocados em tubos a serem centrifugados e adicionado 2,0 mL de ácido metafosfórico (3M) e a solução formada foi centrifugada durante 15 minutos a 13,000 × g. Após este processo, o sobrenadante foi coletado em tubos eppendorf, que foram selados, identificados, congelados para determinação adicional de concentrações de ácidos orgânicos e etanol usando técnicas de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) de acordo com Vratny e Mudrik (1985).

### **Contagem de população microbiana**

Para enumeração dos grupos microbianos as amostras foram obtidas da homogeneização de todas as repetições de cada tratamento, sendo

adicionados 90 mL de água destilada nas amostras e homogeneizadas em liquidificador industrial durante 1 minuto, obtendo-se a diluição de  $10^{-1}$ . Em seguida, diluições sucessivas foram realizadas, objetivando-se obter diluições variando de  $10^{-1}$  a  $10^{-9}$ . O plaqueamento foi realizado em duplicata em placas de petri estéreis. As populações microbianas foram quantificadas, utilizando-se meios de culturas seletivos para cada grupo microbiano listado a seguir: Agar Rogosa (Difco), para enumeração das bactérias lácticas (BAL) após incubação por 48 horas em estufa B.O.D., à  $37^{\circ}\text{C}$ ; Brilliant Green Agar (Difco), para enumeração de enterobactérias (ENT) após incubação por 24 horas em estufa B.O.D. à  $35^{\circ}\text{C}$ ; e Batata Dextrose Agar, foi acrescido de 1 dag  $\text{kg}^{-1}$  de ácido tartárico a 1%, após a esterilização, para contagem de mofos e leveduras (M e L) após incubação por 3-7 dias à temperatura ambiente. As placas consideradas susceptíveis à contagem foram aquelas em que houve valores entre 30 e 300 UFC (unidade formadora de colônia) em uma placa de petri. Consideraram-se então as médias das placas da diluição selecionada. A diferenciação entre leveduras e bolores foi dada pela estrutura física das colônias, o que foi visualmente perceptível, pois leveduras são unicelulares e bolores multicelulares (GONZÁLEZ e RODRÍGUEZ, 2003).

### **Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância e posterior Teste de Tukey, onde as médias foram comparadas ao nível de 5% de significância. Os dados de degradabilidade foram analisados por análise de variância para o delineamento em parcelas subdivididas, no qual os dois animais representaram os blocos; as silagens bioinoculadas as parcelas e os sete horários de incubação (0, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 h) dos alimentos no rúmen, as sub-parcelas. As curvas de degradação para MS e FDN dos silos bioinoculados utilizados para cada animal foram submetidas a ajustes pelos respectivos modelos, o que rendeu as estimativas dos parâmetros analisados. Os dados foram analisados pelo processo iterativo da implementação SAS® PROC NLIN do algoritmo Marquardt.

## RESULTADOS

### Composição química, ácidos graxos voláteis e etanol

Foram observadas diferenças ( $P < 0,05$ ) para a matéria seca (MS), fibra em detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), carboidratos não fibrosos (CNF) e extrato etéreo das silagens bioinoculadas com diferentes dosagens de suco fermentado de milho (Tabela 3).

**Tabela 3.** Composição química de silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, expressos em  $\text{g kg}^{-1}$  MS<sup>a</sup>

Variáveis	Suco fermentado de milho ( $\text{ml t}^{-1}$ de silagem)					Média	EPM <sup>f</sup>	P-valor
	0	200	400	800	1600			
Matéria seca	183,4c	246,3a	227,9ab	219,2b	212,7b	217,9	5,77	<0,01*
Proteína bruta	35,3	43,3	40,5	36,5	34,6	38,0	43,99	0,58 <sup>ns</sup>
FDN <sup>a</sup>	687,8	630,7	645,7	674,0	665,7	661	23,7	0,47 <sup>ns</sup>
FDA <sup>b</sup>	550ab	493b	569a	532ab	548ab	539	16,4	0,05*
MM <sup>c</sup>	53,0a	46,2ab	27,6b	44,9ab	30,8ab	40,3	5,29	0,02*
N-NH <sub>3</sub> (%NT) <sup>d</sup>	2,8	2,0	2,3	2,4	3,7	2,6	0,78	0,58 <sup>ns</sup>
CNF <sup>e</sup>	217b	273a	280a	238ab	262ab	21,97	1,24	<0,02*
Extrato Etéreo	6,03b	6,25a	5,89c	6,03b	5,95bc	6,03	0,03	<0,0001*
pH	4,3	4,3	4,3	4,4	4,3	4,3	0,37	0,89 <sup>ns</sup>

Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem estatisticamente pelo teste Tukey  $P < 0,05$ ; \* significativo a  $P < 0,05$ ; <sup>ns</sup>não significativo a  $P > 0,05$ ; <sup>a</sup> $\text{g kg}^{-1}$  <sup>a</sup>FDN= Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; <sup>b</sup>FDA= Fibra Insolúvel em Detergente Ácido; <sup>c</sup>MM= Material mineral; <sup>d</sup>N-NH<sub>3</sub>= Nitrogênio amoniacal em relação à porcentagem de nitrogênio total; <sup>e</sup>CNF= Carboidratos Não Fibrosos; <sup>f</sup>EPM= erro padrão médio.

Para matéria seca o maior valor encontrado foi na silagem bioinoculada com 200 ml de suco fermentado de milho por tonelada. Para os valores de proteína bruta, fibra insolúvel em detergente neutro, nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e pH não houve diferença significativa entre as diferentes quantidades de bioinoculante de milho.

A menor quantidade de fibras insolúveis em detergente ácido foi encontrada na silagem bioinoculada com 200 ml  $\text{t}^{-1}$ . Já para matéria mineral, o

menor valor foi obtido com a inoculação de 400 ml do suco por tonelada de silagem. As maiores quantidades de carboidratos não fibrosos (CNF) foram nas silagens bioinoculadas. Todos os tratamentos tiveram valores de extrato etéreo alto, com destaque para o tratamento com 200 ml de bioinoculante por tonelada de silagem de cana-de-açúcar.

Em relação aos ácidos graxos voláteis e etanol (Tabela 4), os teores de ácido láctico e etanol não diferiram ( $P < 0,05$ ) entre as diferentes quantidades de bioinoculantes utilizado na silagem de cana-de-açúcar.

**Tabela 4.** Ácidos graxos voláteis e etanol da silagem de cana-de-açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, expressos em  $\text{g kg}^{-1}$  MS<sup>a</sup>

Variáveis	Suco fermentado de milho ( $\text{ml t}^{-1}$ de silagem)					Média	EPM <sup>b</sup>	P-valor
	0	200	400	800	1600			
Ácido láctico	62,8	61,0	59,5	59,9	49,7	58,6	5,50	0,50 <sup>ns</sup>
Ácido acético	11,4 <sup>b</sup>	9,6 <sup>b</sup>	16,3 <sup>a</sup>	19,5 <sup>a</sup>	18,3 <sup>a</sup>	15,1	1,62	<0,01*
Ácido propiônico	0,36 <sup>b</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,35 <sup>b</sup>	1,01 <sup>a</sup>	0,72 <sup>a</sup>	0,56	0,11	<0,01*
Ácido butírico	4,92 <sup>a</sup>	1,07 <sup>bc</sup>	1,94 <sup>b</sup>	0,64 <sup>bc</sup>	0,46 <sup>c</sup>	1,81	0,33	<0,01*
Etanol	33,1	24,5	21,2	32,0	27,0	27,5	4,58	0,35 <sup>ns</sup>

Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem estatisticamente pelo teste Tukey  $P < 0,05$ ; \*significativo a  $P < 0,05$ ; <sup>ns</sup>não significativo a  $P > 0,05$ ; <sup>a</sup> $\text{g kg}^{-1}$  MS = Ingredientes expressos em gramas por quilograma de matéria seca; <sup>b</sup>EPM= erro padrão médio.

O ácido acético foi encontrado em maior concentração nas silagens bioinoculadas com maiores quantidades de suco fermentado (400, 800 e 1600  $\text{ml t}^{-1}$ ), assim como o propiônico (800 e 1600  $\text{ml/ton}$ ). O ácido butírico foi encontrado em maior quantidade no tratamento controle, sem a adição de suco fermentado de milho.

### População microbiana

Na Figura 1, pode-se observar que a população de microorganismos do suco fermentado de milho manteve-se aproximadamente na mesma quantidade encontrada na planta fresca após ser picada.

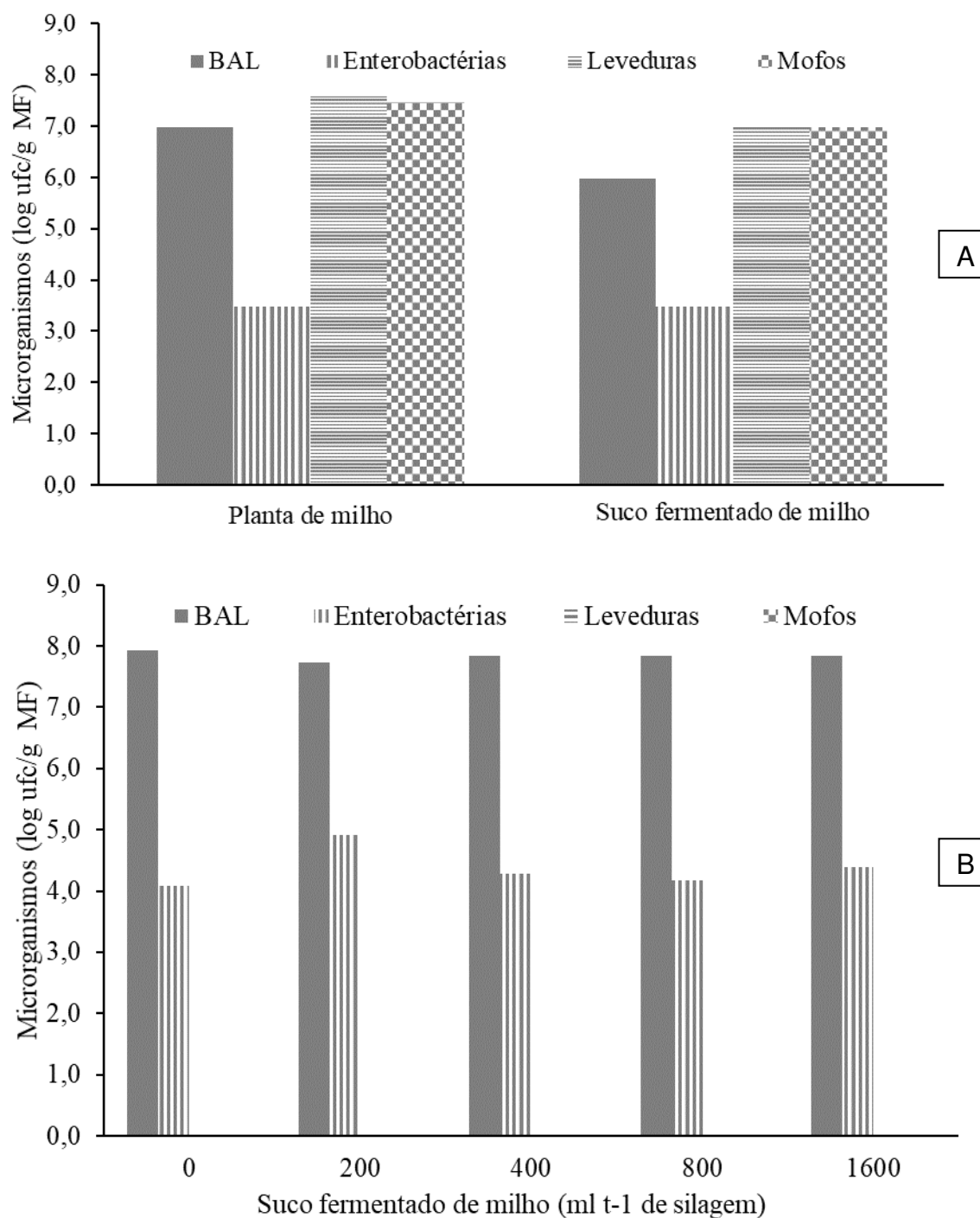


Figura 1. (A) Valores de contagem de microrganismos em planta de milho, suco fermentado de silagem de milho e (B) silagem de cana-de-açúcar sem e com diferentes quantidades de suco fermentado de milho. BAL: bactérias do ácido láctico.

Todos os tratamentos tiveram resultados semelhantes para o desenvolvimento de bactérias lácticas bem como para enterobactérias, com um pequeno aumento apenas para a população de enterobactérias no tratamento que recebeu 200 ml de bioinoculante por tonelada. Não foi encontrada uma quantidade significativa de leveduras e mofos em nenhum dos tratamentos.

## Degradabilidade

Todos os tratamentos apresentaram uma degradabilidade baixa, com uma resposta mais satisfatória nas primeiras 48 horas para os tratamentos bioinoculados com 200 e 800 ml de suco fermentado e para o tratamento bioinoculado com 400 ml por tonelada a partir das 48 horas, como observado na Figura 2.

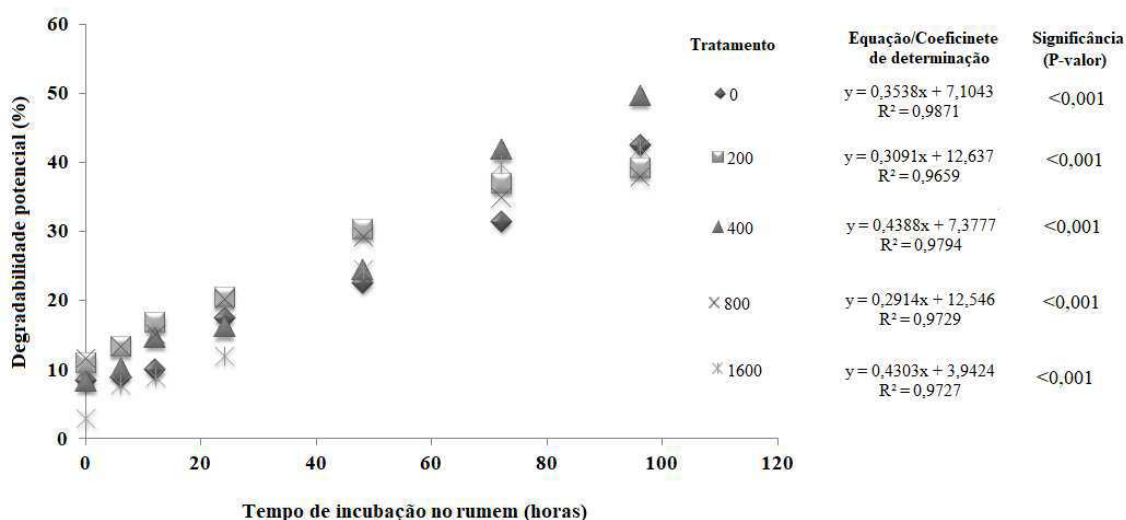


Figura 2. Degradabilidade Potencial (DP) da silagem de cana-de-açúcar bioinoculada com suco fermentado de milho em função do tempo de permanência no rúmen (h).

## DISCUSSÃO

### Composição química, ácidos graxos voláteis e etanol

A redução nos valores de MS do material ensilado em comparação com a cana-de-açúcar *in natura* era esperada devido as perdas relacionadas ao processo fermentativo como comentado por Rocha et al. (2014). Ao observar



nesse estudo a redução na MS da silagem controle em comparação com as demais, nota-se que o bioinoculante foi eficiente em reduzir as perdas no processo fermentativo.

A silagem bioinoculada com o suco de milho fermentado com a proporção equivalente a 200 ml t<sup>-1</sup> apresentou maior concentração de MS, bem como menor quantidade de FDA demonstrando ser economicamente mais vantajosa para o produtor em comparação com as demais amostras estudadas. Possivelmente, essa menor concentração de MS e maiores de FDA nos demais tratamentos tenha decorrido do fato que os componentes fibrosos tornarem-se mais concentrados na MS da silagem devido um aumento percentual dos constituintes da parede celular, em razão da perda de carboidratos solúveis na forma de gases e efluentes durante a ensilagem e de sua utilização pelos microrganismos, assim como discorrido por Pedroso et al. (2007).

Muck & Kung Jr. (1997) sugeriram que a adição de inoculantes poderia proporcionar incrementos ao padrão de fermentação da silagem, favorecendo a degradação de carboidratos estruturais da forragem, por fornecer açúcar adicional para a fermentação, assim como é notório nos tratamentos bioinoculados, os quais tiveram maior quantidade de CNF em comparação ao tratamento testemunha, sendo inversamente proporcional aos valores de FDA. A quantidade de MM encontra-se com valores tidos como ideias (>3%) para a silagem de cana-de-açúcar, exceto no tratamento bioinoculado com 400 ml t<sup>-1</sup>.

O teor de N-NH<sub>3</sub> observado nesta pesquisa é considerado apropriado nos tratamentos avaliados, sendo inferior a 10% do nitrogênio total. Woolford (1984) e McDonald et al. (1991), na classificação das silagens quanto ao teor de nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total, consideram como: muito boa quando os valores são inferiores a 10%; aceitável de 10 a 15%; e insatisfatória quando os valores se situam acima de 20%. Baixas concentrações de nitrogênio amoniacal indicam menor intensidade de proteólise durante o processo de fermentação, resultado da menor atividade de bactérias clostrídicas e conseqüentemente da menor produção de ácido butírico (McDonald, 1991).

Isto poder ser confirmado, quando se observam as menores quantidades de ácido butírico nos mesmos tratamentos (Tabela 4) que tiveram maior quantidade de ácido acético e propiônico, isso porque estes ácidos dificultam a proliferação de bactérias do gênero *Clostridium*, mantendo assim a qualidade da silagem, pois a presença de ácido butírico é indicativo da proliferação deste gênero de bactérias e está positivamente correlacionado à redução da palatabilidade e do consumo da forragem (MUCK e BOLSEN, 1991).

A silagem sem suco fermentado de milho apresentou maior concentração de ácido butírico, isso demonstra que esse aditivo foi eficiente ao inocular a microflora epífita (NUSSIO et al. 2013), sendo capaz de dificultar a proliferação de clostrídios, ao contrário dos resultados obtidos por Del Valle (2018), em que ao avaliar o efeito da quitosana na resposta da silagem de cana-de-açúcar, tratamento com inoculante não afetou as concentrações de ácido butírico.

A média das concentrações de ácido láctico nas silagens apresentou-se entre os valores de 4 a 6% e os valores de ácido acético abaixo de 2% na MS, apontados por Vilela (1998) como referência para silagem adequada. Os valores de ácido láctico foram melhores do que os encontrados por Pedroso et al. (2017) para silagens de cana-de-açúcar inoculadas com quatro combinações de ureia com benzoato de sódio e três doses de propionato de sódio. A produção de ácido láctico observada auxilia na mais rápida redução no pH nas silagens, o que auxiliou o controle da proliferação de bactérias do gênero *Clostridium*, contribuindo também com o mais alto teor de MS observado nos tratamentos com bioinoculantes e aceitabilidade da silagem pelos animais (McDONALD et al., 1991).

### **População microbiana**

O suco fermentado de milho mostrou-se um bom bioinoculante ao manter a mesma quantidade de microorganismos contidos na planta *in natura*, mesmo depois de ser armazenado por 35 dias. Isto garante ao produtor que a silagem seja bioinoculada com um material semelhante a própria planta de

milho, que é uma das melhores forrageiras para ensilagem (NUSSIO et. al., 2001), enriquecendo assim a silagem de cana-de-açúcar.

A alta concentração de ácido lático em todos os tratamentos possivelmente impediu o desenvolvimento de mofos e leveduras, característica favorável para a silagem. Tanto a população de bactérias do ácido lático quanto a de enterobactérias foi maior do que as encontradas por Silva et al. (2018) ao fazer uma triagem de cepas de *Lactobacillus buchneri* a partir de silagem de milho e utilizá-las como bioinoculante em silagens de milho e cana-de-açúcar, provavelmente devido o material utilizado.

### **Degradabilidade**

A maior degradabilidade *in situ* da MS e da FDN nas silagens de cana-de-açúcar bioinoculados com 200 e 800 ml/t de suco de milho pode ser atribuída, em parte, ao fato de estas silagens apresentarem menor fração fibrosa, como expresso na Tabela 3, corroborando com o enfatizado por Loures et al. (2005), reforçando a hipótese de que a concentração de lignina é uma das principais responsáveis pelas limitações da digestibilidade. Aliado a isso, o material demorou a ser degradado pelos microorganismos ruminais, possivelmente, devido uma baixa quantidade de fungos nesse ambiente, os quais tiveram um lento crescimento populacional e por isso a demora em afrouxar as fibras e permitir uma maior degradabilidade em consequência da alimentação, pelos demais microorganismos, do conteúdo celular (CINTRA, 2016), ou uma baixa concentração de bactérias celulolíticas.

### **CONCLUSÃO**

A adição do bioinoculante de suco fermentado de milho melhorou a qualidade da silagem de cana-de-açúcar, proporcionando maior concentração matéria seca, diminuindo a quantidade de fibras insolúveis em detergente ácido, aumentando os carboidratos não fibrosos, além de reduzir a concentração de ácido butírico, sem alterar a população microbiana, e melhorar a degradabilidade *in situ* da MS e FDN. Há, porém, a necessidade de fazer mais estudos para adequar a dosagem do bioinoculante de suco fermentado de

milho, sabendo-se que a quantidade de 200 ml t<sup>-1</sup> mostrou os resultados mais satisfatórios.

## REFERÊNCIAS

- AOAC. **Association of official, chemists, official methods of analysis**. 15th Edition, Washington DC, U.S.A. 1990.
- ASSIS, F. G. V. et al. New inoculants on maize silage fermentation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, n. 8, p. 395-403, 2014.
- CINTRA, L. C. Produção de hemicelulases recombinantes e aplicação na hidrólise do bagaço de cana de açúcar. **Tese (Doutorado em Biologia Molecular)-Universidade de Brasília**, p. 181. 2016.
- DEL VALLE, T. A. et al. Effect of chitosan on the preservation quality of sugarcane silage. **Grass and Forage Science**, v 73, p. 630–638 2018.
- GONZÁLEZ, G.; RODRÍGUEZ, A. A. Effect of Storage Method on Fermentation Characteristics, Aerobic Stability, and Forage Intake of Tropical Grasses Ensiled in Round Bales<sup>1</sup>. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 3, p. 926-933, 2003.
- JÚNIOR, G. B. M.; VILELA, L.; DE SOUSA, D. M. G. **Cerrado: uso eficiente de corretivos e fertilizantes em pastagens**. Embrapa Cerrados, p 224, 2007.
- KUNG JR, L.; STANLEY, R. W. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole-plant sugarcane preserved as silage. **Journal of Animal Science**, v. 54, n. 4, p. 689-696, 1982.
- LOURES, D. R. S. et al. Composição bromatológica e produção de efluente de silagens de capim-Tanzânia sob efeitos do emurchecimento, do tamanho de partícula e do uso de aditivos biológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.726-735, 2005.
- MARTHA JÚNIOR, G. B.; VILELA, L.; SOUSA, D. M. G. Adubação nitrogenada. Cerrado: uso eficiente de corretivos e fertilizantes em cerrados. **Planaltina: Embrapa Cerrados**, p. 117-144, 2007.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. Plant enzymes. **The biochemistry of silage**, v. 2, p. 48-80, 1991.
- MUCK, R. E.; BOLSEN, K. K. Silage preservation and silage additive products. **Field guide for hay and silage management in North America**, p. 105-126, 1991.

- MUCK, R. E.; KUNG JR, L. Effects of silage additives on ensiling. **Silage: Field to feedbunk**, p. 187-199, 1997.
- NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 8, p. 2051-2069, 1988.
- NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; DIAS, F. N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. **Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas**, v. 1, p. 127-145, 2001.
- NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P.; PEDROSO, A. de F. Silagem de cana-de-açúcar. In: **Embrapa Pecuária Sudeste-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGEM, 20., 2003, Piracicaba. Produção animal em pastagens: situação atual e perspectivas: anais. Editado por Aristeu M. Peixoto, José Carlos de Moura, Sila Carneiro da Silva e Vidal Pedroso de Faria., p. 187-205, 2003.
- PEDROSO, A. de F. et al. Chemical composition, fermentation profile and apparent digestibility of sugarcane silage treated with chemical additives. **Boletim de Indústria Animal**, v. 74, n. 3, p. 182-194, 2017.
- PEDROSO, A. de F. et al. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Embrapa Pecuária Sudeste-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2007.
- RAMOS, A. M.; SANTOS, L. A. R.; FORTES, L. T. G. (Ed.). **Normais climatológicas do Brasil, 1961-1990**. Instituto Nacional de Meteorologia-INMET, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA, 2009.
- RESENDE, F. D. et al. Terminação de bovinos de corte com ênfase na utilização de volumosos conservados. In: REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A. (Eds). **Volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p. 83-104, 2005.
- ROCHA, W. J. B. et al. Fermentative characteristics of sugar cane silages with additives. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 4, p. 801-814, 2014.

- ROMAN, J. et al. Performance of finishing beef cattle fed different diets containing whole-crop maize silage or sugarcane silage. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 682-689, 2011.
- ROTH, A. P. T. P. et al. Sugarcane silage production treated with additives at different times post burning. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 88-96, 2010.
- SANTOS, M. C. et al. Nutritive value of sugarcane silage treated with chemical additives. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 2, p. 159-163, 2009.
- SENGER, C. C. et al. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 146, n. 1-2, p. 169-174, 2008.
- SILVA, L. D. et al. Effects of *Lactobacillus buchneri* isolated from tropical maize silage on fermentation and aerobic stability of maize and sugarcane silages. **Grass and Forage Science**, v. 73, n. 3, p. 660-670, 2018.
- SIQUEIRA, G. R. et al. Uso da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, 2012.
- 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, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VILELA, D. Aditivos para silagem de plantas de clima tropical. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 73-108, 1998.
- VRÁTNY, P.; MUDŘÍK, Z. Liquid chromatography of organic acids in silage extracts using dual detection. **Journal of Chromatography A**, v. 322, p. 352-357, 1985.
- WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: **Cornell nutrition conference for feed manufacturers**, 61., 1999, Proceedings... Ithaca: Cornell University, p.176-185, 1999.
- WOOLFORD, M.K. et al. **The silage fermentation**. Marcel Dekker, Inc., p 350, 1984.

## **CAPÍTULO 02**

---

**Efeitos da adição de bioinoculantes do suco de milho fermentado sobre as perdas e a estabilidade aeróbica da silagem de cana-de-açúcar**



## **Efeitos da adição de bioinoculantes do suco de milho fermentado sobre as perdas e a estabilidade aeróbica da silagem de cana-de-açúcar**

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar as perdas, estabilidade aeróbia, pH e amônia da silagem de cana aditivada com diferentes dosagens de suco fermentado de milho. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em que os tratamentos consistiram de cinco proporções do suco fermentado da planta de milho (0, 200, 400, 800 e 1600 ml t<sup>-1</sup>) na silagem de cana-de-açúcar. A maior perda por efluentes, bem como por gases, se deu na silagem controle (0 ml t<sup>-1</sup>), havendo diferença em comparação com as bioinoculadas ( $P<0,05$ ), conseqüentemente, a recuperação da matéria seca foi estatisticamente menor na silagem sem bioinoculante ( $P<0,05$ ). Não houve diferença significativa em relação aos valores de N-NH<sub>3</sub> (%NT). Houve efeito linear crescente ( $P<0,01$ ) do tempo de exposição ao ar sobre a temperatura superficial da silagem. Para temperatura interna da silagem houve interação com o tempo de exposição ao ar, onde a maior temperatura foi obtida na silagem de cana-de-açúcar sem o bioinoculante, causando a quebra da estabilidade aeróbia após as 31 horas e 50 minutos. A utilização do suco fermentado de milho propiciou uma silagem de cana-de-açúcar de melhor qualidade em comparação ao tratamento controle, sendo a dose de 200 ml t<sup>-1</sup> a que apresentou resultados mais satisfatórios.

**PALAVRAS-CHAVE:** amônia, inoculante, pH, silo, *Saccharum officinarum* L.

**ABSTRACT:** The objective was to evaluate the losses, aerobic stability, pH and ammonia of cane silage supplemented with different doses of fermented corn juice. The experimental design consisted of five proportions of the fermented juice of the corn plant (0, 200, 400, 800 and 1600 ml t<sup>-1</sup>) in sugarcane silage. The highest loss by effluents, as well as by gases, occurred in the control silage (0 ml t<sup>-1</sup>), with a difference in comparison with the bioinoculants ( $P<0.05$ ), consequently the dry matter recovery was statistically lower in the silage without bioinoculant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in relation to N-NH<sub>3</sub> values (% NT). There was an increasing linear effect ( $P<0.01$ ) of air exposure time on the silage surface temperature. For the internal temperature of the silage there was interaction with the time of exposure to air, where the highest

temperature was obtained in the sugarcane silage without the bioinoculant, causing the aerobic stability to break after the 31 hours and 50 minutes. The use of fermented corn juice provided a better quality of sugarcane silage compared to the control treatment, with the dose of 200 ml t<sup>-1</sup> being the most satisfactory results.

**KEYWORDS:** ammonia, inoculante, pH, losses, silo, *Saccharum officinarum* L.

## INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é um importante recurso alimentar em muitos países tropicais. Sua capacidade de manter boa qualidade permite aos criadores ofertarem alimento fresco para os animais mesmo na estação seca. No entanto, a colheita diária dificulta as práticas de manejo no campo e pode exigir intensa mão de obra, o que levou ao aumento do uso de cana-de-açúcar como silagem (NUSSIO et al., 2003).

Apesar de existirem vantagens potenciais, a ensilagem da cana-de-açúcar apresenta inconvenientes. No processo fermentativo da sacarose, conduzido majoritariamente por leveduras, pode ocorrer perda acentuada de matéria seca e de valor nutritivo, devido à conversão de açúcares em etanol, CO<sub>2</sub> e água. Em função disso, aditivos químicos e microbiológicos podem ser utilizados para manipular o perfil fermentativo de silagens e reduzir perdas de matéria seca (MUCK & KUNG, 1997; PEDROSO et al., 2007).

A presença de amônia numa silagem é utilizada como parâmetro de sua avaliação. McDonald et al. (1991) afirmou que a falta de estabilidade da silagem resulta na transformação do ácido láctico em butírico e na degradação extensiva dos aminoácidos em amônia, CO<sub>2</sub> e aminas. A extensão da degradação dos aminoácidos nas silagens de baixo pH depende, principalmente, do grau pelo qual a atividade clostrídica tenha sido suprimida, e isto está relacionado com a taxa de produção de ácido láctico e queda do pH.

Ao melhorar o padrão de fermentação, ocorre o desenvolvimento dos microrganismos benéficos, como as bactérias produtoras de ácido láctico, e promove a inibição dos indesejáveis, como as leveduras, enterobactérias e os

clostrídeos (VALERIANO et al., 2009; GISMERVIK et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Muitos estudos têm sido realizados a respeito do uso de aditivos que previnam as fermentações indesejáveis na fase aeróbica, porém, os experimentos têm mostrado que quando um aditivo é hábil durante a anaerobiose, o mesmo não proporciona tal pujança na aerobiose. Neste sentido, hipotetizou-se que o suco fermentado da planta de milho (*Zea mays*) possui características químicas que o tornam ideal para o uso como bioinoculante no momento da ensilagem por estimular o crescimento de bactérias ácido-láticas e promover queda mais acentuada do pH da silagem e rápido acúmulo de ácido láctico (ASSIS et al., 2014), evitando perdas e melhorando a qualidade da silagem de cana-de-açúcar, além de ter alta concentração de carboidratos solúveis na matéria original e baixo poder tampão. Assim, objetivou-se avaliar as perdas, estabilidade aeróbia, pH e amônia da silagem de cana aditivada com diferentes dosagens de suco fermentado de milho.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local**

O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal do Piauí, *Campus* Professora Cinobelina Elvas, município de Bom Jesus – PI, Semiárido Piauiense. De acordo com a classificação de Köppen, a região apresenta Clima de Savana Tropical (Aw), com duas estações bem definidas: a estação seca, que se estende de maio a outubro; e a estação chuvosa, que se estende de novembro a abril. Localizado nas coordenadas geográficas 09°04'28"S, 44°21'31"W, na altitude média de 277 m, com precipitação média entre 900 a 1200 mm/ano e temperatura média de 26,2 °C (RAMOS et al., 2009).

### **Delineamentos experimental e tratamentos**

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em que os tratamentos consistiram de cinco proporções do suco fermentado da planta de milho (0, 200, 400, 800 e 1600 ml t<sup>-1</sup>) em silagem de cana-de-açúcar com cinco repetições. O tratamento controle correspondeu a silagem sem o suco.

## Cultivo e produção da silagem

Na área experimental de cultivo do milho (híbrido de BAS) e de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) foi realizada a coleta representativa de solo de 0-20 cm. Após a coleta, a amostra foi enviada ao laboratório de Centro de Análise de Solos do *Campus* Professora Cinobelina Elvas (CPCE) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os resultados obtidos na análise de solo estão apresentados na Tabela 1 e embasaram o cálculo de adubação da área.

**Tabela 1.** Análise química do solo da área onde foi realizado o plantio do milho

pH	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	t	T	V	M
H <sub>2</sub> O	-----mg/dm <sup>3</sup> -----			-----cmol/dm <sup>3</sup> -----					%			
5,3	15,71	116,9	-	1,76	0,48	0,00	0,17	4,32	4,32	7,52	66,08	0,0

\*pH em água – relação 1:2,5; P – K – Na – extrator Mehlich 1; Ca – Mg – Al – extrator KCl 1 mol/L; H+Al – Extrator SMP; SB – Soma de Bases Trocáveis; t – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; T – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva a pH 7,0; V :Índice de Saturação de Bases; M: Índice de Saturação de Alumínio.

As plantas de cana-de-açúcar foram cultivadas em janeiro de 2016, em sistema de sequeiro, e foi realizado corte de uniformização no plantio em setembro de 2016, para a planta ser colhida com 10 meses. O corte de uniformização da área de cana-de-açúcar foi realizado com facão de 40 cm a uma altura de resíduo de 10 cm acima do solo. O cultivo do milho foi realizado em março de 2017 na mesma área experimental. Em ambos os cultivos foram aplicados 40 kg de fósforo ha<sup>-1</sup> (superfosfato simples, 18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 11% de S e 18% de Ca) e com 30 dias após o plantio (milho) e após o corte de uniformização (cana-de-açúcar) foi aplicado 120 kg de nitrogênio ha<sup>-1</sup> (uréia, 45% de N). Não foi necessário fazer correção do solo nem adubação com potássio, pois de acordo com a Tabela 1, os valores químicos presentes no solo atendiam as espécies, de acordo com Martha Jr et al. (2007).

Para produção do bioinoculante a planta do milho foi cortada e triturada quando chegou ao estádio R4 (grão farináceo). A coleta do material foi feita no dia da picagem, sendo retiradas 500 gramas da planta de milho, a qual foi processada em liquidificador, o líquido coletado foi coado, adicionadas 500 gramas de glucose de milho e água esterilizada até completar 2 litros da mistura. Posteriormente, a solução foi armazenada em garrafa plástica tipo

PET (poli tereftalato de etila) de dois litros, devidamente esterilizada. Foi realizada uma adaptação na tampa da garrafa com uma válvula de bunsen para liberação dos gases produzidos. A garrafa com o suco foi armazenada por 35 dias a sombra em condições ambiente. A silagem avaliada foi de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). Para picagem do material foi utilizada máquina de ensilagem estacionária regulada para corte de partícula de 2-3 cm. A cana-de-açúcar picada recebeu o bioinoculante por meio de pulverização.

A composição química da cana-de-açúcar e do milho está expressa na tabela 2.

**Tabela 2.** Composição química da cana-de-açúcar usada como silagem e do milho que foi extraído o suco fermentado para bioinoculante

Composição química (g kg <sup>-1</sup> de DM)	Ingredientes	
	Cana-de-açúcar	Milho
Matéria seca (g kg <sup>-1</sup> de alimento)	257	332
Proteína bruta	39,8	79,4
Fibra em detergente neutro	490	562
Fibra em detergente ácido	408	278
Material mineral	1,49	4,59
N-NH <sub>3</sub> (%NT) <sup>a</sup>	3,10	2,78
pH	5,64	5,20
Extrato etéreo	6,36	31,6
Carboidratos não fibrosos	462	322

<sup>a</sup>N-NH<sub>3</sub>= Nitrogênio amoniacal em relação à porcentagem de nitrogênio total.

Foram confeccionados mini silos de balde com capacidade de 3,0 kg de armazenamento de silagem e mini silos de tubo de PVC (100 mm de diâmetro) com 50 cm de comprimento. As silagens foram armazenadas com densidade média de 508 kg/m<sup>3</sup>. Para caracterização da silagem foi analisada a forragem *in natura* e o produto da silagem após 112 dias do ensilamento. Nas silagens dos minis silos de tubos de PVC foi analisada a estabilidade aeróbia e dos mini silos de balde foram realizados as análises de pH, nitrogênio amoniacal, matéria seca e perdas por efluentes e gases. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Microbiologia e de Nutrição Animal do CPCE/UFPI, no município de Bom Jesus, Piauí.

## **Determinações de perdas por efluente, matéria seca e gases**

Para obtenção dos valores de perdas por gases e efluentes, foram utilizados silos experimentais confeccionados em baldes com capacidade de três kg de armazenamento de silagem, vedados e com uma válvula tipo Bunsen adaptada em sua tampa, para permitir o escape dos gases oriundos da fermentação. No fundo de cada balde foi depositado 1,0 kg de areia, separados da forragem por uma camada de tecido de algodão, sendo possível medir a quantidade de efluentes retida. A abertura dos silos experimentais (baldes) ocorreu após um período de 112 dias.

As perdas por gases, efluentes e a recuperação da matéria seca foram obtidas segundo equações descritas por Zanine et al. (2010). Baseada na diferença de peso da massa de forragem seca, foram obtidas as perdas por gases, utilizando-se a seguinte equação:  $G = (PCI - PCf) / (MFi \times MSi) \times 100$ , onde: G: perdas por gases (%MS); PCI: peso do balde cheio no fechamento (kg); PCf: peso do balde cheio na abertura (kg); MFi: massa de forragem no fechamento (kg); MSi: teor de matéria seca da forragem no fechamento.

As perdas por efluente foram calculadas pela equação abaixo, baseadas na diferença de peso da areia e relacionadas com a massa de forragem fresca no fechamento.  $E = [(PVf - Tb) - (PVi - Tb)] / MFi \times 100$ , onde: E: produção de efluentes (kg/ tonelada de silagem); PVi: peso do balde vazio + peso da areia no fechamento (kg); PVf: peso do balde vazio + peso da areia na abertura (kg); Tb: tara do balde; MFi: massa de forragem no fechamento (kg).

A seguinte equação foi utilizada para estimar a recuperação de matéria seca:  $RMS (g/kg \text{ de MS}) = [(MVfo \times MSfo) / (MSi \times MSSi)] \times 100$ , onde: RMS (g/kg de MS): Recuperação de MS em porcentagem; MVfo: Massa Verde de forragem (kg) na hora da ensilagem; MSfo: MS da forragem (%) na hora da ensilagem; MSi: Massa da Silagem (kg) antes da abertura dos silos; MSSi: MS da Silagem (%) na abertura dos silos

### **Determinação de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>)**

A determinação do pH em água destilada foi realizada em duplicata, coletando-se aproximadamente 25 g de amostra do material ensilado de cada tratamento e adicionado 100 ml de água (SILVA & QUEIROZ, 2002). Após uma

hora, foi feita leitura, de acordo com a metodologia descrita por Bolsen et al. (1992), com medidor de pH microprocessado de bancada (Marconi).

Para a determinação de N-NH<sub>3</sub> das amostras, foi utilizada metodologia conforme Bolsen et al. (1992). Em 25 g de amostra fresca foram adicionados 200 ml de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,2 N. Após repouso de 48 horas em refrigeração, a mistura foi filtrada com auxílio de papel filtro, para estimativa considerando o teor de matéria seca da silagem, de acordo com Detmann et al. (2012).

### **Estabilidade aeróbia**

Para determinar a estabilidade aeróbia as silagens foram levadas para sala fechada com controle de temperatura. A temperatura ambiente da sala foi mensurada com termômetros localizados próximos as silagens. Na avaliação da estabilidade aeróbia da camada superficial da silagem, após os períodos determinado para cada experimento, foi realizada a abertura da silagem retirando a embalagem com abertura total. O material foi exposto ao ar por período de 0 a 96 horas.

Após a abertura do silo no tempo determinado, foi conferida a temperatura superficial e de massa da silagem, em intervalos de uma hora, durante um período de 12 horas. A temperatura superficial da silagem foi aferida com auxílio de termômetro digital de infravermelho sem toque, enquanto, a temperatura da massa de forragem, com um termômetro digital de imersão, inserido a 10 cm no centro da silagem. A temperatura ambiente foi aferida através de termômetro suspenso ao ar. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo observado para que a silagem, após exposição ao ar, apresente aumento de 2 °C em relação à temperatura ambiente, de acordo com Taylor e Kung Jr (2002).

### **Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão (linear e quadrática) utilizando os procedimentos MIXED e REG implementados no software estatístico SAS® (versão 9.1. Cary, NC, EUA). Os dados foram submetidos à análise de variância e posterior Teste de Tukey, onde as médias foram comparadas ao nível de 5%.

## RESULTADOS

### Determinações de perdas por efluente, matéria seca e gases

Na Tabela 3 estão expressos os resultados de perdas durante o processo fermentativo anaeróbico das silagens, onde a maior perda por efluentes se deu na silagem sem bioinoculante, em contrapartida, a silagem bioinoculada com 200 ml de suco fermentado por tonelada ( $t^{-1}$ ) apresentou os melhores valores, ou seja, menor perda. Ao verificar as perdas por gases e as perdas por efluentes, o comportamento foi similar. A recuperação da matéria seca foi estatisticamente igual em todos os tratamentos bioinoculados, que foram todos superiores ao tratamento controle.

**Tabela 3.** Perdas da silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho.

Variáveis	Suco fermentado de milho ( $ml\ t^{-1}$ de silagem)					Média	EPM <sup>c</sup>	P-valor
	0	200	400	800	1600			
E (kg/t MV) <sup>a</sup>	70,6a	29,0c	51,6b	54,7b	54,7b	52,1	2,70	<0,01*
G (% MS) <sup>b</sup>	2,2a	1,5b	1,5b	1,7ab	2,0ab	1,80	0,14	<0,01*
RMS (%MS) <sup>c</sup>	76,0b	90,9a	92,9a	90,4a	90,8a	88,2	2,87	<0,01*

Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem estatisticamente pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ ; \*significativo a  $P < 0,05$ ; <sup>ns</sup>não significativo a  $P > 0,05$ ; <sup>a</sup>E= Perda por efluentes kg/t com base na Matéria verde (MV); <sup>b</sup>G: Perdas por gases, porcentagem (%) com base na Matéria Seca (MS); <sup>c</sup>RMS: Recuperação da Matéria Seca em porcentagem (%); <sup>e</sup>EPM= erro padrão médio.

### Determinação nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>)

Não houve diferença significativa entre os valores de nitrogênio amoniacal presentes nas silagens, como pode ser observado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Nitrogênio amoniacal na silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, expressos em  $g\ kg^{-1}\ MS^a$

Variável	Suco fermentado de milho ( $ml\ t^{-1}$ de silagem)					Média	EPM <sup>c</sup>	P-valor
	0	200	400	800	1600			
N-NH <sub>3</sub> (%NT) <sup>b</sup>	2,8	2,0	2,3	2,4	3,7	2,6	0,78	0,58 <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup>Não significativo pelo teste de Tukey a  $P > 0,05$ ; <sup>a</sup>g  $kg^{-1}$ ; <sup>b</sup>N-NH<sub>3</sub>= Nitrogênio amoniacal em relação à porcentagem de nitrogênio total; <sup>c</sup>EPM= erro padrão médio.



### Estabilidade aeróbia

Houve efeito de interação ( $P < 0,01$ ) entre os fatores (suco × tempo de exposição ao ar) somente para a temperatura interna da silagem (Tabela 5).

**Tabela 5.** Desdobramento, médias, significância e análise de variância da estabilidade aeróbia de silagem de cana de açúcar com a inclusão de suco fermentado de milho, após abertura e exposição ao ar em ambiente com temperatura controlada.

SFM <sup>a</sup> (ml t <sup>-1</sup> de silagem)	Horas					Média	P-valor	
	0	24	48	72	96		x	x <sup>2</sup>
Temperatura ambiental (°C)								
	25,2	24,8	25,8	25,2	24,8			
Temperatura superficial da silagem (°C)								
0	20,0	21,9	23,1	23,6	22,7	22,4a	-	-
200	18,8	20,3	23,2	23,4	21,8	21,7ab	-	-
400	19,2	20,1	23,1	23,4	22,7	21,5ab	-	-
800	19,6	18,5	23,4	22,7	21,9	21,1b	-	-
1600	19,2	18,6	23,2	22,5	23,8	21,5ab	-	-
Média	19,7	20,7	21,6	22,6	23,6		<0,01*	<0,01*
Temperatura interna da silagem (°C)								
0	26,1a	23,1a	32,2a	26,9a	23,8a	26,4	0,62 <sup>ns</sup>	<0,01*
200	24,9a	20,7b	26,3b	25,0ab	23,1a	24,0	0,68 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>
400	25,9a	22,3ab	26,6b	25,7ab	23,7a	24,8	0,56 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>
800	26,1a	22,2ab	27,1b	25,5ab	23,5a	24,8	0,27 <sup>ns</sup>	0,19 <sup>ns</sup>
1600	25,3a	21,9ab	26,6b	23,7b	22,7a	24,0	>0,05 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>
Média	25,0	24,9	24,8	24,7	24,5		-	-
pH da silagem								
0	4,36	4,22	4,35	5,17	5,36	4,69ab	-	-
200	4,36	4,39	4,38	4,85	5,26	4,65b	-	-
400	4,35	4,28	4,35	4,94	5,12	4,61b	-	-
800	4,40	4,37	4,65	5,58	5,34	4,87a	-	-
1600	4,34	4,30	4,35	5,11	5,24	4,67ab	-	-
Média	4,17	4,43	4,70	4,96	5,24		<0,01*	<0,01*
P-valor								
Análise de variância				SFM	Horas	SFM × Horas		EPM <sup>b</sup>
Temperatura superficial da silagem				0,01	<0,01	0,10		0,25
Temperatura interna da silagem				<0,01	<0,01	<0,01		0,24
Ph				<0,01	<0,01	0,37		0,05

Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey  $P < 0,05$ ; \* significativo a  $P < 0,05$ ; <sup>ns</sup>não significativo a  $P > 0,05$ ; <sup>a</sup>SFM = suco fermentado de silagem; x = efeito linear; x<sup>2</sup> = efeito quadrático; <sup>b</sup>EPM = erro padrão médio.

A temperatura superficial da silagem e pH apresentaram diferença ( $P < 0,05$ ) para o tempo de exposição ao ar, e para o suco fermentado de silagem (SFM).

Ainda na Tabela 5, pode-se observar que houve efeito linear crescente ( $P < 0,01$ ) do tempo de exposição ao ar sobre a temperatura superficial da silagem que aumentou 3,9 °C após 96h. Para temperatura interna da silagem houve interação, onde a maior temperatura foi obtida na silagem de cana-de-açúcar sem o bioinoculante com 48 horas de exposição ao ar.

Para o desdobramento das diferentes aplicações de bioinoculante na silagem de cana-de-açúcar em relação a estabilidade aeróbia, só foi observado efeito quadrático ( $P < 0,01$ ) na silagem sem o uso do suco fermentado. Com relação ao pH pode-se observar que para os períodos de exposição houve efeito linear crescente e que a dose 800 ml t<sup>-1</sup> proporcionou um maior valor, sendo que o tratamento controle e a dose de 1600 ml t<sup>-1</sup> foram iguais estatisticamente às demais dosagens.

## DISCUSSÃO

### **Determinações de perdas por efluente, matéria seca e gases**

O bioinoculante de suco fermentado de milho foi eficiente em reduzir as perdas das silagens quando comparadas ao tratamento controle, chegando a evitar até 41% das perdas por efluentes, como no tratamento bioinoculado com 200 ml t<sup>-1</sup> e, conseqüentemente, tendo uma maior recuperação da matéria seca.

O suco fermentado de milho utilizado em menor quantidade evitou melhor as perdas por efluentes na silagem de cana-de-açúcar do que a glicerina bruta (0, 1, 5, 10 e 15% de inclusão na matéria natural) usado por Rigueira et al. (2017), do que o resíduo de feijão comum (0, 130 e 240 g kg<sup>-1</sup> de matéria seca) usado por Santos et al. (2018), misturas de diferentes inoculantes microbianos (*Lactobacillus buchneri*; *Propionibacterium acidipropionici*; *P. acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*; *L. buchneri* + *P. acidipropionici*; *L. buchneri* + *P. acidipropionici* + *L. plantarum*) usados por Moraes (2017) e a taboa (*Typha domingensis*) (0, 20, 30 e 40% de inclusão na matéria natural) usada por Queiroz et al. (2015). Provando assim ser eficiente em reduzir perdas por

efluentes, conseqüente perdas de componentes nutricionais e perdas da matéria natural que teria contato com o líquido lixiviado.

As perdas por gases também indicam que a utilização do bioinoculante nas proporções de 200 e 400 ml t<sup>-1</sup> foi eficaz e diminui significativamente quando comparadas as da silagem controle. A maior ou menor produção de gases pode estar relacionada às perdas de matéria seca durante o processo fermentativo, provavelmente causadas por fermentações indesejáveis proveniente do metabolismo de microrganismos, como clostrídeos, enterobactérias e leveduras que se desenvolvem em pH mais elevado e que são responsáveis pela produção de gases (MELO et al., 2016). O resultado obtido nesse estudo comprova então a melhoria na qualidade da silagem de cana-de-açúcar por meio da utilização de suco fermentado de milho, como pode ser confirmado também na significativa diferença na recuperação da matéria seca nos tratamentos bioinoculados.

#### **Determinação nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>)**

McDonald et al. (1991) afirmaram que silagens que apresentam concentração de N-NH<sub>3</sub> inferior a 10% é indicativo que houve menores perdas durante a fermentação, sobretudo de compostos nitrogenados, e isto foi confirmado quando comparado os valores de nitrogênio amoniacal com as perdas de cada tratamento deste estudo, que apesar de não ter diferença significativa entre os valores de N-NH<sub>3</sub> (%NT), nas silagens em que estes eram menores teve menos perdas, tanto por efluentes quanto por gases, indicando também menor proteólise.

Mesmo tendo maiores valores de matéria seca nos tratamentos bioinoculados, as concentrações de nitrogênio amoniacal nesses tratamentos não se elevaram em comparação ao tratamento controle, sendo assim um resultado favorável.

#### **Estabilidade aeróbia**

Houve elevação da temperatura superficial em todos os tratamentos, porém nenhuma ultrapassou a temperatura ambiente, deduzindo-se assim que esse aumento da temperatura da superfície deu-se pela interferência do

ambiente e não pela ação dos microrganismos, ou seja, por fatores exógenos e não por fatores intrínsecos a própria silagem.

O único tratamento que apresentou quebra da estabilidade aeróbica foi a silagem sem bioinoculante, que com base na equação de regressão ( $Y=24,494+0,1705x-0,0018x^2$ ) aumentou 2°C as 31 horas e 50 minutos e as 62 horas e 50 minutos, em comparação a temperatura na abertura do silo, isso pode ter acontecido apenas neste tratamento porque o suco fermentado de milho possivelmente, ao adicionar carboidratos solúveis e microflora epífita acidificou rapidamente a forragem nos primeiros dias de ensilada e impediu assim a colonização pelos microrganismos nos demais tratamentos e pelas menores quantidades de substratos fermentáveis do milho (BARBOSA et al., 2011).

O acúmulo de temperatura após a abertura do silo é reflexo da intensidade de reações promovidas por fungos filamentosos, leveduras e bactérias aeróbias (AMARAL et al., 2008). Segundo Guim et al. (2002), a respiração dos microrganismos aeróbios pode ser considerada como um dos principais agentes que influenciam a qualidade das silagens, deste modo, a silagem sem bioinoculante é comprovadamente de qualidade inferior as bioinoculadas com o suco fermentado do milho.

O fato de poderem se multiplicar em uma ampla faixa de pH (3 a 8), a qual as silagens estudadas se encontram, faz com que as leveduras sejam o primeiro grupo de microrganismos a se desenvolver quando o oxigênio entra em contato com a silagem (McDONALD et al., 1991). A presença das leveduras é indesejável devido ao consumo de açúcares e liberação de CO<sub>2</sub>, resultando em perda de matéria seca, além da liberação de calor que provoca aumento de produtos da reação de “Maillard” (JOBIM et al., 1997).

A interação significativa entre a temperatura interna e as horas de exposição da silagem demonstram então a ação dos microrganismos na fase aeróbica e alertam para o “tempo de cocho” que esse alimento pode ter, para evitar danos a nutrição e a saúde dos animais.

## **CONCLUSÃO**

O bioinoculante feito com suco fermentado de milho proporcionou menores perdas por efluentes e gases, conseqüentemente maior recuperação da matéria seca, as quais permaneceram estáveis em condições de aerobiose até às 96 horas após abertura dos silos. A bioinoculação com 200 ml t<sup>-1</sup> mostrou-se mais eficiente e vantajosa para o uso na silagem de cana-de-açúcar, sendo uma excelente alternativa para manter os níveis de oferta de forragem mesmo em períodos secos, uniformizando assim a produção animal.

## REFERENCIAS

- AMARAL, R. C. et al. Estabilidade aeróbia de silagens do capim-marandu submetidas a diferentes intensidades de compactação na ensilagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 6, p. 977-983, 2008.
- BARBOSA, L. A. et al. Estabilidade aeróbia de silagens de milho e soja exclusivas ou associadas. **Ars Vet.**, v. 27, n. 4, p. 255-262, 2011.
- BOLSEN, K. K. et al. Evaluation of inoculant-treated corn silages. **Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports**, n. 1, p. 104-107, 1992.
- DETMANN, E. et al. Métodos para análise de alimentos. **Visconde do Rio Branco, MG: Suprema**, p. 214, 2012.
- GISMERVIK, K. et al. Effect of invasive slug populations (*Arion vulgaris*) on grass silage. II: Microbiological quality and feed safety. **Animal Feed Science and Technology**, v. 199, p. 20-28, 2015.
- GUIM, A. et al. Estabilidade aeróbica de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) emurcheado e tratado com inoculante microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 2176-2185, 2002.
- JOBIM, C. C. et al. Presença de microrganismos na silagem de grãos úmidos de milho ensilado com diferentes proporções de sabugo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 201-204, 1997.
- MARTHA JÚNIOR, G. B.; VILELA, L.; SOUSA, DMG de. Adubação nitrogenada. **Cerrado: uso eficiente de corretivos e fertilizantes em cerrados. Planaltina: Embrapa Cerrados**, p. 117-144, 2007.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of the silage**. Edinburgh: J. Wiley and Sons, p. 226, 1991.
- MELO, M.J. A. F. et al. Características fermentativas e composição química da silagem de capim tanzânia com aditivos<sup>1</sup>. **Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa**, v. 73, n. 3, p. 189-197, 2016.

- MORAES, R. L. et al. Silagem de cana-de-açúcar tratada com inoculantes microbianos e suas misturas. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.7, n.3, p.76-83, 2017.
- MUCK, R. E.; KUNG JR, L. Effects of silage additives on ensiling. **Silage: Field to feedbunk**, p. 187-199, 1997.
- NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P.; PEDROSO, A. de F. Silagem de cana-de-açúcar. In: **Embrapa Pecuária Sudeste-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGEM, 20., 2003, Piracicaba. Produção animal em pastagens: situação atual e perspectivas: anais. Editado por Aristeu M. Peixoto, José Carlos de Moura, Sila Carneiro da Silva e Vidal Pedroso de Faria., 2003.
- PEDROSO, A. D. F. et al. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p. 558–564, 2007.
- QUEIROZ, M. A. A. et al. Características fermentativas e bromatológicas de silagens de cana-de-açúcar com taboa. **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, p. 136-141, 2015.
- RAMOS, A. M. et al. Normais climatológicas do Brasil 1961-1990. **Revista e Ampliada, Instituto Nacional de Meteorologia – INMET**, p. 465, 2009.
- RIGUEIRA, J. P. S. et al. Níveis de glicerina bruta na ensilagem de cana-de-açúcar: perdas e valor nutricional. **Boletim de Indústria Animal**, v. 74, n. 4, p. 319-327, 2017.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Determinação do nitrogênio total e da proteína bruta. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**, v. 3, p. 57-75, 2002.
- SILVA, G. M. et al. Fatores anti-qualitativos em silagens. **PUBVET**, v. 9, p. 502-557, 2015.

- SANTOS, K. C. et al. Common bean residue as additive in sugarcane silage. **Revista Ciência Agronômica**, v. 49, n. 1, p. 159-166, 2018.
- TAYLOR, C. C.; KUNG, L. The Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the Fermentation and Aerobic Stability of High Moisture Corn in Laboratory Silos<sup>1</sup>. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1526-1532, 2002.
- VALERIANO, A. R. et al. Efeito da adição de *Lactobacillus* sp. na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 6, p. 1009-1017, 2009.
- ZANINE, A. M. et al. Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2611-2616, 2010



### **Conclusão geral**

A partir do presente estudo, verificou-se que a inclusão do suco fermentado de milho como bioinoculante na silagem de cana-de-açúcar melhorou a qualidade físicoquímica, os padrões de fermentação e a degradabilidade da silagem de cana-de-açúcar, fato confirmado através da maior concentração matéria seca, diminuindo a quantidade de fibras insolúveis em detergente ácido, aumento dos carboidratos não fibrosos, redução da concentração de ácido butírico, sem alterar a população microbiana e melhora na degradabilidade in situ da MS e FDN, menores perdas por efluentes e gases, conseqüentemente maior recuperação da matéria seca nas silagens bioinoculadas, as quais permaneceram estáveis em condições de aerobiose até às 96 horas após abertura dos silos. A bioinoculação com 200 ml t<sup>-1</sup> mostrou-se mais eficiente e vantajosa para o uso na silagem de cana-de-açúcar, sendo uma excelente alternativa para manter os níveis de oferta de forragem mesmo em períodos secos, uniformizando assim a produção animal e viabilizando os custos.