

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**MICHELE GABRIEL CAMILO**

**UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS EM SILAGENS DE MILHO,  
MILHETO E SORGO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES  
2022**

**MICHELE GABRIEL CAMILO**

**UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS EM SILAGENS DE MILHO,  
MILHETO E SORGO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Ciência Animal.

Orientador: Professor Alberto Magno Fernandes

Coorientador: Professor Tadeu Silva de Oliveira

**CAMPOS DOS GOYTACAZES  
2022**

**FICHA CATALOGRÁFICA**

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

C183

Camilo, Michele Gabriel.

Utilização de aditivos em silagens de milho, milheto e sorgo. / Michele Gabriel Camilo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

93 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2022.

Orientador: Alberto Magno Fernandes. Coorientador:  
Tadeu Silva de Oliveira.

1. conservação. 2. estabilidade aeróbia . 3. forrageiras . 4. inoculante. 5. valor nutritivo . I.  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 636

MICHELE GABRIEL CAMILO

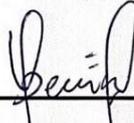
UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS EM SILAGENS DE MILHO,  
MILHETO E SORGO

Tese apresentada ao Centro de  
Ciências e Tecnologias  
Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense  
Darcy Ribeiro: como requisito  
parcial para a obtenção do grau  
de Doutora em Ciência Animal.

Data de aprovação 18/02/2022

---

**Prof. Dr. Tadeu Silva de Oliveira (D. Sc, Zootecnia) – UENF  
(Coorientador)**



---

Prof. Dr. Odilon Gomes Pereira (D. sc, Zootecma) -UFV

---

Dra. Elizabeth Fonsêca Processi (D. sc, Ciência Animal) - UFRRJ

---

Prof. Dr. Alberto Magno Fernandes (D. sc, Zootecnia) - UENF  
(Orientador)

**Dedico ao meu tio  
Carlos Francisco Camilo.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por estar presente em todos os momentos da minha vida, me protegendo e me dando força para superar todos os obstáculos que surgiram ao longo da vida.

Aos meus pais, Maria Geane e Wanderley, as minhas irmãs Dani e Gabi meu sobrinho Hugo, por sempre apoiarem minhas decisões e lutarem junto comigo para que este sonho se tornasse realidade.

Ao meu tio José Luís Camilo por me incentivar e compartilhar dos meus sonhos.

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro em especial ao programa de Pós Graduação em Ciência Animal, agradeço a oportunidade e o conhecimento adquirido durante o doutorado.

Ao professor e orientador Alberto Magno Fernandes, pela orientação, conselhos, amizade e confiança depositada.

Ao professor e coorientador Dr. Tadeu Silva de Oliveira pelos conselhos, amizade, confiança depositada e suporte ao trabalho.

A coorientadora Dr. Elizabeht Processi pela confiança depositada.

Ao professor Dr. Odilon por aceitar participar da banca e pela contribuição com o trabalho.

Ao grupo NUPRO pela amizade, aprendizado e por toda parceira ao longo desses anos.

A Dani, Sarah e Raiany, pela amizade construída, pela cumplicidade e parceria.

Ao Paulo pela amizade e parceria de experimento.

Aos amigos que ganhei em Campos: Laila, Camila, Kissyla, Fernanda, Ismael, Rabeche, Elvanio, Manu, Cris e Sol.

A Luize pela amizade e pelo total apoio nos primeiros anos de pesquisa.

A Laisa e Kalyane pela amizade construída, pela ajuda no trabalho e pelo apoio em todos esses anos.

A Cris e João Paulo pela paciência e suporte ao trabalho.

A Solange pela confiança e por todo suporte nas análises de microbiologia.

A Lallemand Animal Nutrition e ao André Siqueira pela contribuição com o trabalho.

Aos meus amigos Tati e Guilherme, que foram o apoio essencial nesses quatro

anos.

Aos funcionários do campus da UFRRJ Campos dos Goytacazes: Cacau, Davi, Manuel e Marquinho por toda ajuda com o experimento de campo.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.”

**“Você pode abrir a boca e reclamar, ou abrir a mente e aprender.**

**O dia será o mesmo, o resultado não.”**

**(AMORIM, J.A)**

## RESUMO

**CAMILO, Michele Gabriel, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2022, Utilização de aditivos em silagens de milho, milho e sorgo. Orientador: Alberto Magno Fernandes.**

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar a utilização de aditivos na composição química, produção de gases *in vitro*, pH, perdas, estabilidade aeróbia e população microbiana de silagens de milho, milho e sorgo em silos de PVC (policloreto de vinil). No primeiro ano foi utilizado um delineamento em blocos casualizados em um esquema fatorial  $2 \times 3$ , sendo dois tipos de silos (silos saco e nos silos de PVC) e três aditivos ([Control, CON] sem aditivo; 50 g de milho moido [MM] por kg de material ensilado; e 2 g/t de forragem de aditivo microbiológico (*Lactobacillus plantarum* [ $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g] e *Propionibacterium acidipropionici* [ $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g,], com cinco repetições por tratamento. Para determinação do valor nutricional foram realizadas as análises químicas e a produção de gás *in vitro* das silagens. As perdas foram determinadas somente dos silos PVC. Além disso, foram determinados a estabilidade aeróbica, pH e população microbiana das silagens. No segundo ano foi utilizado um delineamento em blocos casualizados em um esquema fatorial  $3 \times 4$ , sendo três culturas (milho, milho e sorgo) e quatro aditivos : (Controle - CON; microbiológico - Micro (*Lactobacillus plantarum* [ $2.5 \times 10^{10}$  cfu/g] e *Propionibacterium acidipropionici* [ $2.5 \times 10^{10}$  cfu/g]); Quitosana e Blend (quitosana e micro), com cinco repetições por tratamento. Para determinação do valor nutricional foram realizadas as análises químicas e a produção de gás *in vitro* das silagens. Foram determinadas digestibilidade *in vitro* e matéria seca da digestibilidade *in vitro*, perdas fermentativa, determinados a estabilidade aeróbica, pH e população microbiana das silagens.

**Palavras – chave:** conservação, estabilidade aeróbica, forragem.

## ABSTRAC

**CAMILO, Michele Gabriel, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2022, Use of additives in corn, millet and sorghum silages. Orientador: Alberto Magno Fernandes.**

This study aimed to evaluate additives on chemical composition, *in vitro* gas production, pH, losses, aerobic stability, and microbial population of corn, pearl millet, and sorghum silages in PVC silos (polyvinyl chloride). A randomized block design was used in a 2×3 factorial scheme in the first year. Two types of silos (bag silos and PVC silos) and three additives, and ([control, CON] without additive; 50 g of ground corn per kg of ensiled material; and 2 g/t of forage of microbiological additive( *Lactobacillus plantarum* [ $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g] and *Propionibacterium acidipropionic* [ $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g,], with five replicates per treatment. Chemical analysis and *in vitro* gas production were performed to determine the silages' nutritional value. Losses were determined only from PVC silos. In addition, we determined the aerobic stability, pH, and microbial population of the silages. A randomized block design was used in a 3×4 factorial scheme in the second year. Three crops (pearl millet, corn, and sorghum) and four additives: (control-CON; microbiological-Micro ( *Lactobacillus plantarum* [ $2.5 \times 10^{10}$  cfu / g] and *Propionibacterium acidipropionic* [ $2.5 \times 10^{10}$  cfu/g]); chitosan and Blend (chitosan and micro), with five replicates per treatment. Chemical analysis and *in vitro* gas production were performed to determine the nutritional value of the silages. We determined the *in vitro* digestibility and dry matter *in vitro* digestibility, fermentative losses, aerobic stability, pH, and microbial population of silages.

**Keywords:** conservation. aerobic stability, forage

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
2.1. MILHETO.....	14
2.2. MILHO.....	16
2.3. SORGO .....	17
2.4. SILAGEM E PROCESSO DE ENSILAGEM .....	18
2.5. POPULAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	20
2.6. ADITIVOS PARA SILAGEM.....	21
2.7. VALOR NUTRICIONAL.....	25
2.8. DIGESTIBILIDADE .....	27
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	29
<b>CAPÍTULO. 1 - AVALIAÇÃO DO TIPO DE SILO ASSOCIADO OU NÃO A ADITIVOS SOBRE O VALOR NUTRICIONAL, ESTABILIDADE AERÓBICA E MICROBIOLOGIA DA SILAGEM DE MILHETO</b> .....	41
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	42
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	44
2.2. TIPO DE SILO, ADITIVOS E DESENHO EXPERIMENTAL .....	44
2.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	45
2.4. CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS.....	46
2.5. PERDAS FERMENTATIVAS E POR EFLUENTES.....	47
2.6. TESTE DE ESTABILIDADE AERÓBICA .....	48
2.7. POPULAÇÕES MICROBIANAS e pH.....	48
2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	49
<b>3. RESULTADOS</b> .....	50
3.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS.....	50
3.2. PERDAS FERMENTATIVAS E POR EFLUENTES.....	50
3.3. TESTE DE ESTABILIDADE AERÓBICA .....	50
3.4. POPULAÇÕES MICROBIANAS e Ph.....	51
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	51
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	56
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	57
<b>TABELAS</b> .....	60
<b>FIGURAS</b> .....	64
<b>CAPÍTULO. 2 – EFEITO DE QUITOSANA SOBRE O PERFIL FERMENTATIVO DE SILAGENS DE MILHO, MILHETO E SORGO</b> .....	66

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	67
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	68
2.2. TIPO DE ADITIVOS E DESENHO EXPERIMENTAL .....	69
2.4 CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS, DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> E ESTIMATIVA DAS ENERGIAS METABOLIZÁVEIS E LÍQUIDAS.....	70
2.5 PERDAS POR GASES E POR EFLUENTES E RECUPERAÇÃO DE MATÉRIA SECA .....	72
2.6 PERFIL FERMENTATIVO .....	73
2.7 POPULAÇÃO MICROBIANA .....	73
2.8 ESTABILIDADE AERÓBIA .....	74
2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	74
<b>3. RESULTADOS</b> .....	75
3.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> E ESTIMATIVAS DE ENERGIA METABOLIZÁVEL E LÍQUIDA.....	75
3.2. PERFIL FERMENTATIVO .....	76
3.3. <i>PERDAS E RECUPERAÇÃO DE MATÉRIA SECA</i> .....	76
3.4. POPULAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	76
3.5. ESTABILIDADE AERÓBIA .....	76
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	77
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	81
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	82
<b>TABELAS</b> .....	86
<b>FIGURAS</b> .....	92
<b>CONCLUSÃO GERAL</b> .....	93

## 1. INTRODUÇÃO

Diversas tecnologias têm sido estudadas para minimizar os efeitos da sazonalidade na produção de forragem nos trópicos, dentre essas tecnologias, a conservação da forragem como silagem é uma das mais importantes na atual produção pecuária (FREITAS et al.,2020). O processo de conservação é complexo, pois envolve vários microrganismos de diferentes espécies e gêneros na conversão das taxas de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos presentes nos alimentos durante o processo de fermentação (MCDONALD, 1991).

As plantas têm potenciais distintos de adaptação nos diferentes ecossistemas e são diversos os fatores que caracterizam cada um deles (ZIMMER et al., 2013). Ao escolher uma espécie forrageira devemos considerar sua produtividade e qualidade nutritiva, mas também sua adaptação ao clima e tipo de solo do local (EMBRAPA, 2006). O principal objetivo do processo de ensilagem é a preservação original dos nutrientes encontrados na forragem fresca, com o mínimo de perdas de matéria seca e energia. Segundo Kung Jr. (2009) os aditivos podem ser usados no processo de ensilagem com intuito de recuperar nutrientes e energia da forragem, com conseqüente benefício no desempenho dos animais.

Vários tipos de aditivos podem ser aplicados no início do processo para garantir que a fermentação ocorra de forma adequada e para melhorar a qualidade da silagem (MUCK et al. 2018).

O presente estudo foi, portanto, realizado com o objetivo de avaliar a utilização de diferentes aditivos na composição química, produção de gases *in vitro*, pH, perdas, estabilidade aeróbia e população microbiana de silagens de milho, milheto e sorgo.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. MILHETO

A planta de milheto (*Pennisetum glaucum*) surgiu entre quatro e cinco mil anos atrás ao sul do deserto do Saara, de onde foi levada para a Índia a partir do ano 2000 a.C., tendo gerado genótipos distintos dos originais africanos. O milheto ainda é uma das culturas mais cultivadas nos países da África Saheliana e Sudanesa (EMBRAPA, 2016).

Pertencente à família Poaceae, subfamília panicoideae, gênero *Pennisetum* (Bruken, 1977) e existem várias sinonímias botânicas usadas para esta espécie *P. typhoides* Stapf e Hubbard, *P. americanum* (L.) Leake ou *P. glaucum* (L.) R. Br., o milheto é uma forrageira caracterizada como gramínea de ciclo vegetativo anual de verão, cespitosa e de crescimento ereto. É uma cultura capaz de se desenvolver em regiões com precipitações pluviométricas anuais inferiores a 400mm (Skerman e Riveros, 1990) e é tolerante à baixa fertilidade do solo (BOGDAN, 1977; FREITAS, 1988; ANDREWS & RAJEWSKI, 1995).

Segundo a Embrapa (2016) o milheto apresenta excelente produção de perfilhos e vigorosa rebrota após corte ou pastejo, a estatura do colmo pode superar 3 m, podendo atingir 1,5 m entre 50 e 55 dias após a emergência, nesse período também ocorrem às primeiras emissões da inflorescência. A planta apresenta folhas com lâminas largas e inflorescência na forma de panícula longa e contraída e necessita de uma disponibilidade hídrica em torno de 30mm para germinar, sendo a temperatura ótima para desenvolvimento do milheto entre 30 e 34 °C (PEREIRA FILHO et al., 2003).

Em comparação com o milho e o sorgo, o milheto requer mais calor para germinar e se estabelece de maneira uniforme e proveitosa. As exigências térmicas ideais para a planta de milheto se encontram em um intervalo de temperaturas noturnas médias de 15-28°C para germinação, podendo ser, desta forma, uma boa opção como planta de cobertura de outono- inverno, embora a época recomendada para o plantio do milheto seja mesmo o verão (PERRET & SCATENA, 1985).

De acordo com Damasceno (2013) o milheto é uma gramínea bastante rústica, com grande produção de matéria seca (8 a 10 t.ha<sup>-1</sup>), com época de semeadura de setembro a março, rebrotando muito bem após roçado no início do florescimento.

No Cerrado e na região Sul é uma excelente opção para a produção de palha para cobertura de solos no sistema de plantio direto, além de ser utilizado para amenizar os

efeitos da compactação dos solos, pois possui um sistema radicular vigoroso, que deixam canais que propiciam condições ao desenvolvimento de raízes da cultura subsequente (WANG; HESKETH; WOOLLEY, 1986). Além disso suas características agronômicas e nutritivas o qualificam como possível substituto energético na alimentação animal (RIBEIRO et al., 2004).

O milheto é considerado uma planta totalmente atóxica para os animais em qualquer estágio vegetativo, podendo ser utilizada para corte, pastejo direto, feno e silagem (BUSO et al., 2011).

O milheto possui teor e qualidade da proteína bruta (PB) semelhantes aos do sorgo e superiores aos do milho utilizado na alimentação animal, em média 12% de PB (PEREIRA et al., 1993). Além de ser pouco exigente quanto à fertilidade do solo, o milheto é uma espécie que apresenta elevada tolerância à toxidez por alumínio (AHLRICH & KRETZSCHMAR, 1991), e possui uma característica que o coloca em vantagem econômica em relação ao milho e ao sorgo, que é a baixa exigência hídrica. A grande tolerância desta cultura à seca deve-se ao seu sistema radicular agressivo, que pode alcançar 3,60m de profundidade o que propicia a absorção de nutrientes e água em camadas profundas de sub-superfície onde geralmente os solos são mais úmidos (SKERMAN e RIVEROS, 1990).

Uma das principais características do milheto é sua alta eficiência de uso de água, utilizando até 70% menos água que a cultura do milho para produzir a mesma quantidade de matéria seca (ALMEIDA et al., 2018). Enquanto o milho e o sorgo necessitam, respectivamente, de 370 e 321g de água para cada grama de matéria seca, o milheto precisa, dependendo das circunstâncias climáticas, de menos de 300g (EMBRAPA, 2016). O ciclo da planta é de aproximadamente 130 dias, sendo que as variedades precoces variam de 60 a 90 dias, com produção média de 10 toneladas de matéria seca/ha. Daí o milheto se tornar uma planta de importância, não só pelas características benéficas que proporciona ao solo, mas também no fator econômico de instalação e condução da lavoura (PERRET e SCATENA, 1985).

O milheto é uma espécie de duplo propósito, cujos grãos são usados para consumo humano e animal; a planta inteira é utilizada como alimento para o gado, na forma de capineira, silagem ou pastejo direto, pois produz grande quantidade de folhagem tenra, nutritiva (até 24% de PB e digestibilidade variando de 60 a 78%), além de ser palatável e atóxica (MINOCHA, 1991). Um dos problemas da pecuária no Brasil é a sazonalidade de produção de forrageiras ao longo do ano, levando a períodos de grande produção,

seguidos de escassez, dessa forma, para evitar a falta de alimento volumoso na época seca, são propostos métodos de conservação, sendo a ensilagem o mais utilizado (EVANGELISTA e LIMA, 2001).

E em função de suas características agronômicas, o milho possui bom potencial para ser conservado e usado na forma de silagem (LIMA et al., 1999).

## 2.2.MILHO

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie que pertence à família Gramineae/Poaceae, com origem no teosinto, *Zea mays*, subespécie mexicana (*Zea mays* ssp. mexicana (Schrader) Iltis, há mais de 8000 anos e que é cultivada em muitas partes do Mundo (Estados Unidos da América, República Popular da China, Índia, Brasil, França, Indonésia, África do Sul, etc.). A sua grande adaptabilidade, representada por variados genótipos, permite o seu cultivo desde o Equador até ao limite das terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3600 metros, encontrando-se, assim, em climas tropicais, subtropicais e temperados (BARROS e CALADO, 2014).

O período de crescimento e desenvolvimento do milho é limitado pela água, temperatura e radiação solar ou luminosidade. A cultura do milho necessita que os índices dos fatores climáticos, especialmente a temperatura, precipitação pluviométrica e fotoperíodo, atinjam níveis considerados ótimos, para que o seu potencial genético de produção se expresse ao máximo (EMBRAPA, 2006).

O Brasil, por ser um país de clima tropical em grande parte do seu território, possui uma grande vantagem para cultivar essas gramíneas (metabolismo C4) devido a suas características climáticas, temperaturas em média de 25°C e precipitação anual em torno de 1200mm, ou seja, condição ideal para um ótimo desenvolvimento. Contudo, também existem desvantagens nesse tipo de ambiente, como a imprevisibilidade das condições climáticas e variações bastante acentuadas tanto entre regiões quanto entre anos (PATERNIANI et al., 2000).

A silagem de milho é a mais utilizada no mundo e sua fermentação é considerada ponto de referência (FERRARETTO, SHAVER e LUCK, 2018), em virtude dos adequados teores de carboidratos solúveis encontrados na planta e elevada produção de matéria seca ha<sup>-1</sup>, o que favorece uma boa fermentação quando a mesma é ensilada de maneira adequada, que levam à fermentação láctica, promovendo a conservação de um alimento

de alto valor nutritivo, de fácil preparo e de grande aceitação pelos animais, com rendimento elevado (FERRARETTO, SHAVER & LUCK, 2018).

No Brasil, visando acelerar o processo fermentativo e maior eficiência na preservação das silagens, o uso de inoculantes microbianos tem sido adotado em muitas propriedades rurais. Dentre as bactérias mais utilizadas como inoculantes para silagens, destacam-se as heteroláticas *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentacaceus* e *Enterococcus faecium*, produtoras de ácido lático a partir da fermentação de açúcares simples, resultando em perdas mínimas de energia e matéria seca (SIQUEIRA et al., 2013).

### 2.3.SORGO

O sorgo é um cereal da família das gramíneas Poaceae nativo do Nordeste da África e foi cultivado pela primeira vez entre 3700 e 4000 anos atrás (ROONEY & WANISKA, 2000). O sorgo é uma das principais culturas de cereais em todo o mundo e classificado como a quinta maior produção das culturas de cereais, depois do milho, trigo, arroz e cevada, com 57,6 milhões de toneladas de produção anual globalmente em 2017 (FAO, 2017).

O sorgo [*Sorgo bicolor* (L.) Moench] é uma planta tropical que usa água de forma eficiente e é uma boa alternativa às culturas de milho para alimentação de ruminantes, principalmente em regiões com chuvas baixas ou irregulares (GETACHEW, PUTNAM, BEN, & PETERS, 2016). Em comparação com as plantas de milho, as plantas de sorgo requerem menos fertilização e menos controle de pragas e podem crescer em solos com baixo pH (AERC, 2007).

Entre as forrageiras que podem ser ensiladas, o sorgo tem sido muito explorado por sua maior resistência a veranicos e menor exigência de fertilidade do solo (DIAS et al., 2001). Além disso, a planta de sorgo destaca-se por ser um alimento de alto valor nutritivo, elevada concentração de carboidratos solúveis, essenciais para adequada fermentação láctica, pelos seus altos rendimentos de matéria seca por unidade de área (Neumann et al., 2002), que podem superar os do milho, e pelo menor custo de produção (EVANGELISTA & LIMA, 2000).

Apesar das características da cultura do sorgo serem propícias ao processo de ensilagem, perdas ainda podem ocorrer por conta de fermentações indesejáveis,

provocando prejuízos na qualidade final da silagem produzida (SANTIN et al., 2020). Segundo Martinkoski et al (2013), e Filho et al, (2010), a idade de corte da planta no momento da ensilagem altera diretamente a sua composição bromatológica, quanto maior a idade da planta maior será a participação da fração fibrosa da mesma, podendo interferir na digestibilidade da silagem e seu consumo pelos animais.

#### 2.4.SILAGEM E PROCESSO DE ENSILAGEM

A utilização de forragens conservadas, principalmente na forma de silagem, é uma alternativa viável para que se possa garantir o fornecimento de forragem de alta qualidade durante o período de escassez de alimentos.

A Silagem é o produto resultante da fermentação da planta forrageira na ausência de ar, conservando o volumoso para ser utilizado no período crítico de produção dos pastos. Uma vantagem da silagem é a exigência de uma tecnologia simples e eficiente, embora não necessite de tecnologias complexas para o processo de ensilagem, esta técnica tem que ser feita com alguns cuidados, visando manter o valor nutritivo da forragem (TEIXEIRA et al., 2009).

A ensilagem é um processo que permite a conservação do alimento em meio anaeróbico. O processo normal de ensilagem nada mais é do que a combinação da exclusão de oxigênio e da fermentação natural dos açúcares por bactérias, em ácido láctico e outros produtos, diminuindo o pH do material (SILVA et al., 2015). A falta de oxigênio diminui o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, enquanto que o baixo pH é o principal mecanismo regulador do crescimento de microrganismos anaeróbios (MUCK, 2011).

A conservação de determinada forrageira como silagem envolve um complexo processo bioquímico e microbiológico, desde a colheita até sua utilização na alimentação animal. A forrageira ensilada é conservada por produtos originados da fermentação anaeróbica e, normalmente, os critérios utilizados para classificação de silagens abrangem os valores de pH, os ácidos orgânicos e o nitrogênio amoniacal (VILELA, 1998).

Segundo Neumann et al., (2007), são vários os aspectos que causam variações na qualidade da silagem, como a escolha do híbrido, o estágio de maturação da planta, além de aspectos agrônômicos como tipo de solo e clima, na produção das silagens aspectos relacionados ao tamanho de partículas e à altura de colheita de plantas afetam o grau de

compactação. E para que se obtenha uma boa fermentação a percentagem de matéria seca (MS) do material ensilado deve ficar entre 28 e 35% (ANDRIGUETTO et al., 1983). Os diferentes processos de conservação de forragens convivem rotineiramente com perdas de nutrientes de diversas magnitudes. Especificamente para o processo de ensilagem, a qualidade final do alimento está diretamente relacionada ao material que lhe deu origem e às condições em que o mesmo foi ensilado (LOURES et al., 2003).

Todas as silagens expostas ao ar se deterioram por causa da atividade de microrganismos aeróbicos, o que influencia negativamente a qualidade da silagem e a rentabilidade da propriedade, além de que a deterioração aeróbica leva a um menor consumo desta silagem pelos animais (GERLACH et al., 2013). Alterações substanciais na qualidade nutricional ocorrem quando a silagem é exposta ao ar (TABACCO et al., 2010), sendo que a susceptibilidade à deterioração é um problema muito comum em locais que apresentam clima quente (ASHBELL et al., 2002).

A literatura apresenta diversos tipos de silos experimentais: tubos de PVC, baldes plásticos de diferentes volumes, sacos de polietileno, manilhas de cerâmica e tambores de plástico ou concreto. Independente do tamanho ou tipo do silo o objetivo comum é reproduzir as condições de campo, porém com a vantagem de permitir avaliação de um número maior de variáveis e repetições, com facilidade de manipulação e baixo custo (JUNGES, 2010).

Segundo Ortiz et al. (2009), por meio dos silos laboratoriais tem-se facilidade de manipulação, e as fermentações são semelhantes aos dos silos no campo e como o volume de material ensilado é pequeno, tem baixos custos, proporcionando maior número de repetições. Embora se aceite que tais unidades de experimentação reproduzam as condições anaeróbicas básicas para avaliar a silagem, existem indicações de que, dependendo das condições experimentais, os resultados obtidos podem não ser exatamente aqueles observados em silos a campo (RODRIGUEZ et al., 2002).

No campo os tipos de silo mais comumente utilizados são: silo de superfície e os silos tipo trincheira, porém, há outros tipos que vêm sendo desenvolvidos cada vez mais nas propriedades agrícolas como o silo-fardo revestido por filme plástico (bola) e os silos tubulares (*bag*). Cada um deles tem suas vantagens e desvantagens referentes, principalmente, ao custo de construção, facilidade de carregamento e descarregamento e eficiência na conservação da silagem.

Um aspecto bastante relevante quanto à utilização de silagens em dietas de ruminantes é o conhecimento da composição químico-bromatológica, pois esta

informação permite planejar a utilização correta de alimentos concentrados, visando atender os requerimentos nutricionais dos animais. Assim, a determinação das características que interferem na qualidade de uma silagem, como os constituintes da parede celular são de suma importância (FERREIRA et al., 2013).

Outro aspecto relevante ao processo de fermentação, é que ele é dinâmico e afetado por uma variedade de fatores, o que leva a uma redução no valor nutricional. Com o objetivo de ajudar no processo de fermentação, vários aditivos têm sido utilizados no processo de ensilagem. Embora, os aditivos não substituam um bom manejo, eles são ferramentas que ajudam a assegurar que o processo de ensilagem fique dentro dos limites aceitáveis.

## 2.5. POPULAÇÃO MICROBIOLÓGICA

O ecossistema microbiano da silagem é dominado por bactérias como o *Lactobacillus plantarum*, sendo a espécie mais frequentemente isolada de silagens em geral. Mas bactérias heterofermentativas, como o, *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus brevis*, são encontrados (MCDONALD et al., 1991). Muito frequentemente, as leveduras e os fungos filamentosos também estão presentes na silagem. Os fungos filamentosos muitas vezes ocorrem na silagem como placas com camadas de 20-50 cm a partir da superfície (AUERBACH et al., 1998). O crescimento de fungos filamentosos podem estar associado com a produção de micotoxinas, levando a contaminação das silagens (Storm et al., 2010) e, portanto, ser prejudicial para os animais que a ingerem, trabalhadores rurais e consumidores de produtos lácteos (FINK-GREMMELS, 2008). Storm et al., (2010) avaliando a microbiologia de silagens de milho armazenadas entre três e onze meses após a ensilagem, observaram que os fungos filamentosos mais frequentemente isolados foram *Penicillium roqueforti*, espécies de Zygomycetes (principalmente *Mucor* spp.), *Penicillium paneum* e *Aspergillus fumigatus*.

Segundo Pedroso (2003), os microrganismos naturalmente presentes nas plantas forrageiras, chamados de microflora epífita, são responsáveis pela fermentação das silagens, afetando também a sua estabilidade aeróbia e a eficiência dos inoculantes microbianos. Esses microrganismos naturalmente encontrados durante o processo de ensilagem são essenciais para os processos de fermentação e, a preservação dos materiais (GUIMARÃES et al., 2018).

A população de de microrganismos epifíticos é variável, sendo afetada pelo tipo

de forragem, pelo estágio de maturidade das plantas, pelo clima, pelos tratos agronômicos dispensados na condução da cultura, pelo corte e condicionamento da forrageira (LIN et al., 1992), bem como pela ocorrência de incêndio prévio, no caso da cana-de-açúcar (BERNARDES et al., 2002) e também tamanho da partícula da forragem, compactação, vedação dos silos, acondicionamento do material, teor de carboidratos solúveis e de matéria seca (LIN et al., 1992; FERREIRA et al., 2013).

Geralmente, os microrganismos existentes em maior número nas plantas forrageiras são as enterobactérias, as leveduras e os fungos, que competem com os lactobacilos pelos açúcares durante a ensilagem, sendo considerados indesejáveis (BOLSEN et al., 1992).

Após a obtenção da condição de anaerobiose dentro do silo, a inibição do crescimento da população microbiana indesejável é extremamente importante, principalmente para evitar que prevaleçam competição por substrato com as bactérias ácido lácticas (MCDONALD et al., 1991). A predominância dessas bactérias deve sobressair nas condições anaeróbicas, para que as plantas forrageiras possam ser conservadas como silagem, permitindo adequada fermentação, com queda do pH no material ensilado (FERREIRA et al., 2013).

## 2.6.ADITIVOS PARA SILAGEM

Um aspecto bastante relevante quanto à utilização de silagens é o processo de fermentação, ele é dinâmico e afetado por uma variedade de fatores, o que leva a uma redução no valor nutricional. Com o objetivo de ajudar no processo de fermentação, vários aditivos têm sido utilizados no processo de ensilagem. Embora, os aditivos não substituam um bom manejo, eles são ferramentas que ajudam a assegurar que o processo de ensilagem fique dentro dos limites aceitáveis (FERREIRA et al., 2013).

Os aditivos de silagem são produtos, que quando adicionados às forragens, durante o processo de ensilagem, podem contribuir para reduzir as perdas, estimular as fermentações desejáveis e enriquecer o valor nutritivo, melhorar a palatabilidade, a digestibilidade e o consumo da silagem (EVANGELISTA e LIMA, 2010).

Os aditivos têm dois principais propósitos na silagem: influenciar o processo fermentativo favorecendo a conservação e melhorar o valor nutritivo. Outros propósitos como a diminuição de perdas superficiais e na camada exposta da silagem, aumento da vida útil, aumento do valor energético, melhora da digestibilidade da fibra e da matéria

seca e melhora no desempenho animal, também são observados em silagem com o uso de aditivos bacterianos (KEPLIN, 2006).

Os aditivos podem ser classificados em várias categorias de acordo com sua habilidade de influenciar a fermentação mais do que seus efeitos sobre o valor nutricional ou produção animal. Essas categorias geralmente incluem: estimuladores da fermentação (agem encorajando a fermentação láctica), inibidores da fermentação (agem inibindo parcialmente ou completamente microrganismos indesejáveis), inibidores da deterioração aeróbica (controlar a deterioração da silagem exposta ao ar), nutrientes (adicionados ao material no momento da ensilagem para melhorar o valor nutricional) e absorventes (adicionados em culturas de baixo teor de MS para reduzir perdas de nutrientes e poluição de cursos de água por efluentes) (McDOLNAD et al., 1991). Alguns aditivos podem pertencer a mais de uma categoria, que é o caso dos inoculantes microbiológicos.

Os aditivos biológicos podem auxiliar na produção de silagens, promovendo uma rápida redução no pH e prevenindo a deterioração aeróbica (DRIEHUIS et al., 2018). Estudos demonstraram que a aplicação de *Lactobacillus buchneri* em silagens pode reduzir perdas e aumentar a estabilidade aeróbica, a taxa de degradabilidade e o desempenho animal (RABELO et al., 2017; SCHMIDT et al., 2014).

O princípio do uso de culturas de microrganismos produtores de ácido láctico data de mais de 100 anos, sendo utilizado inicialmente para melhorar a fermentação de resíduos de polpa de beterraba (WATSON & NASH, 1960). O uso de inoculantes microbianos a partir de então se tornou comum na França (DAVIES, 2010) e sucessivamente foram desenvolvidas metodologias para crescimento de culturas puras e seleção de bactérias benéficas produtoras de ácido láctico.

Bumbieris Junior et al. (2011) afirmam que os aditivos para silagem mais utilizado no Brasil atualmente, são os inoculantes microbianos, entretanto, os autores destacam a existência de vários outros tipos de aditivos, como aditivos nutrientes que classificam-se em absorventes de umidade (grãos ou não), nitrogênio não proteico (ureia e amônia), enzimas, além de ácidos orgânicos e inorgânicos.

Inoculantes microbianos usados como aditivos incluem bactérias homofermentativas, heterofermentativas, ou a combinação destas. Os microrganismos homofermentativos caracterizam-se pela taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior concentração de ácido láctico, menores teores de ácido acético e butírico, menor teor de etanol, e maior recuperação de energia e matéria seca. Bactérias

heterofermentativas utilizam ácido lático e glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos e leveduras, sob baixo pH (ZOPOLLATTO et al., 2009).

Os inoculantes microbianos que contêm *Lactobacillus buchneri*, bactéria classificada como heterofermentativa (bactérias facultativas) destacam-se no cenário atual das pesquisas como uma alternativa disponível. Essa ferramenta atua no processo fermentativo promovendo produção de ácido acético, elemento responsável pelo aumento da estabilidade aeróbia (KLEINSCHMIT & KUNG, 2006), conseqüentemente ajudando na preservação dos nutrientes após a abertura dos silos.

Os inoculantes microbianos possibilitam a diminuição das perdas do conteúdo celular, formados principalmente por carboidratos solúveis, proteínas e ácidos orgânicos elevando a digestibilidade, gerando também um aumento na recuperação de nutrientes e energia da forragem, o que faz com que proporcione um melhor desempenho dos animais (BASSO, 2009). Ao inocular culturas forrageiras com bactérias do ácido lático (BAL) homofermentativas, é promovido uma melhora na fermentação da silagem, aumentando rapidamente a produção de ácido lático, com rápida acidificação da silagem, que juntamente com o baixo potencial de redução de oxi- inibição de enterobactérias e bactérias dos gêneros *Listeria*, *Bacillus*, *Clostridium*, resultam em silagens bem fermentadas, porém, esse resultado só é alcançado se houver substrato fermentável suficiente para o adequado desenvolvimento destes microrganismos (FERREIRA, et al., 2013).

O uso de aditivos microbiológicos em silagens tem o objetivo de inibir o crescimento de microrganismos aeróbios (especialmente aqueles associados com instabilidade aeróbia, ex. leveduras, *Listeria*), inibir o crescimento de organismos anaeróbios indesejáveis como enterobactérias e clostrídeos, inibir a atividade de proteases e deaminases da planta e de microrganismos, adicionar microrganismos benéficos para dominar a fermentação, formar produtos finais benéficos para estimular o consumo e a produção do animal e melhorar a recuperação de matéria seca da forragem conservada (KUNG JÚNIOR et al., 2003).

Existe uma grande diversidade de microrganismos utilizados na inoculação, dentre eles bactérias homofermentativas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus faecium*, *Pediococcus pentosaceus* e *Pediococcus acidilactici*), bactérias heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis* e *Propionibacterium*) ou a mistura de

hetero e homofermentativas, sendo que em alguns produtos comerciais há ainda a inclusão de enzimas (amilase, celulase, hemicelulases) no inoculante .

Desde a década de 80, são utilizados no Brasil aditivos microbianos formulados com bactérias de espécies como *Streptococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus plantarum*, cujos princípios de atuação. são aumentar a produção de ácido láctico e promover a rápida redução do pH da massa ensilada (COSTA et al., 2001). A inoculação com bactérias homoláticas é feita com os objetivos de reduzir as fermentações clostrídicas e tornar o processo fermentativo mais eficiente (DRIEHUIS et al., 1997).

Para as espécies do gênero *Lactobacillus*, três grupos foram definidos com base na presença ou ausência das enzimas aldolase e fosfocetolase (KANDLER & WEISS, 1986).

**Grupo 1:** Homofermentativas obrigatórias, que fermentam hexoses homolaticamente, quase que exclusivamente a ácido láctico (>85%), porém, são incapazes de fermentar pentoses, dada a falta da enzima fosfocetolase;

**Grupo 2:** Heterofermentativas facultativas, que utilizam a mesma via das hexoses do grupo 1, porém são capazes de fermentar pentoses, pois possuem as enzimas aldolase e fosfocetolase;

**Grupo 3:** Heterofermentativas obrigatórias, que fermentam hexoses, formando ácido láctico, etanol (ou ácido acético) e CO<sub>2</sub>, podendo ainda fermentar pentoses para formar ácido láctico e ácido acético.

Zopollatto et al. (2009) num estudo de metanálise (1999-2009) detectaram uma limitação de dados sobre o efeito de aditivos microbianos na qualidade das silagens. Os resultados documentados por estes autores mostram que a magnitude das respostas, principalmente sobre o desempenho animal é baixa. Desta forma a justificativa para o uso desses aditivos deve ser avaliada considerando-se a diminuição das perdas na ensilagem e a maior preservação do valor nutritivo da planta. Além disso, constataram que a intensidade das respostas varia de acordo com a espécie vegetal e com o microrganismo estudado, sugerindo uma especificidade entre estes dois componentes. Desta forma os inoculantes para silagem podem facilitar ou acelerar o processo de ensilagem, mas eles não substituem os fatores fundamentais (maturidade da planta, teor de matéria seca, a exclusão de oxigênio), que são primordiais para produção de silagem de boa qualidade. Dentre estes fatores a idade de rebrotação é a que influencia todas as características da silagem desde a fermentação até o valor nutritivo, considerando-se as perdas.

## 2.7. VALOR NUTRICIONAL

A qualidade da forragem a ser consumida está diretamente relacionada com o desempenho animal. A qualidade de uma planta forrageira depende de seus constituintes e esses são influenciados, dentro de uma determinada espécie, pela idade, parte da planta, fertilidade do solo, fertilização recebida, entre outros (VAN SOEST, 1994).

O valor nutritivo de um alimento ou de uma dieta possui três componentes: o consumo alimentar; a digestibilidade; e a eficiência de utilização energética (VAN SOEST, 1994). Desta forma, o valor nutritivo deve se referir às características inerentes à forragem consumida, as quais determinam a concentração de energia metabolizável, bem como a eficiência da utilização parcial (MOTT & MOORE, 1970).

Segundo Nave (2007) o valor nutritivo de plantas forrageiras pode ser estabelecido por dois fatores: a proporção da parede celular da planta e o grau de lignificação. A quantidade de conteúdo celular na matéria seca do alimento determina a proporção de nutrientes completamente disponíveis presentes neste alimento. O conteúdo celular compreende o volume de proteína, carboidratos, açúcares lipídios, ácidos orgânicos e cinzas que estão inteiramente disponíveis e livres dos efeitos da lignina (VAN SOEST, 1982).

O valor nutritivo das plantas forrageiras é determinado pela sua composição química e pelos nutrientes diretamente responsáveis pela digestibilidade da matéria seca, os teores de proteína bruta e de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) (PATERSON et al., 1994).

Segundo Brandão (2015) a composição morfológica da forragem é altamente correlacionada com o valor nutritivo. As maiores mudanças que ocorrem na composição química das forrageiras são aquelas que acompanham sua maturidade, pois à medida que a planta torna-se mais velha, ocorre diminuição na porção de carboidratos solúveis e aumento nas porções de baixa digestibilidade da planta, como os componentes da parede celular, e um aumento na relação haste/folha parece ser o principal fator da perda de qualidade da planta com a maturidade (ALMEIDA, 2009).

Mello et al. (2006) afirmaram que o valor nutritivo de um alimento depende de sua composição química e do aproveitamento de seus nutrientes pelos animais, uma vez que nos animais ruminantes esse aproveitamento é resultante da simbiose entre o animal e a microbiota ruminal. É por meio da simbiose que ocorre a utilização indireta de carboidratos estruturais inacessíveis à ação enzimática dos mamíferos, entretanto, a

quantidade de nutrientes ingeridos e realmente absorvidos depende da taxa de fermentação ruminal e do tempo de permanência e exposição ao ataque microbiano, pois a fração efetivamente degradada é função das taxas de degradação e de passagem (SANTO et al.,2017).

As diferenças na composição nutricional dos alimentos podem acarretar padrões fermentativos distintos, resultando em diferentes proporções dos produtos finais da fermentação como os ácidos graxos acético, propiônico e butírico, que representam uma importante fonte de energia para o metabolismo dos ruminantes (MORGADO et al., 2013). Juntamente com esses processos fermentativos há produção de CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>, em maior ou menor quantidade, dependendo da proporção individual dos ácidos produzidos que é influenciada pela composição da matéria orgânica das dietas, principalmente pela natureza e taxa de fermentação dos carboidratos (MOSS et al., 2000).

Os valores de digestibilidade da fibra em detergente neutro são usados para estimar o conteúdo de energia dos alimentos para formulação de dietas (NRC, 2001) e para estimar a digestibilidade de forragens usadas no campo. Diversas metodologias são utilizadas para quantificar a fermentação *in vitro*, por meio de adição de inóculo ruminal com o intuito de quantificar a digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN), entre essas estão compreendidas técnicas as quais se utilizam pressão contínua de CO<sub>2</sub> (GOERING & VAN SOEST, 1970), tubos de centrífuga com válvulas de liberação de gás (MOORE e MOTT, 1976) e frascos de soro com rolhas (PELL & SCHOFIELD, 1993).

A técnica *in vitro* da produção de gases, assim como a técnica *in situ*, é baseada na degradação dos alimentos pelos microrganismos ruminais (GARCIA, 2013). Essa técnica permite pela simulação *in vitro* do ambiente ruminal, medir o desaparecimento de material no decorrer do tempo, pela quantificação dos resíduos após a incubação, e observar a cinética de fermentação, uma vez que mensura a formação de gases da ação microbiana durante o processo de degradação (BUENO, 2002).

Pell e Schofield (1993) avaliaram a digestibilidade *in vitro* da forragem por meio da produção de gases e citam que o método gravimétrico *in vitro* quantifica o desaparecimento dos componentes do substrato, enquanto que a produção de gases foca no aparecimento dos produtos da fermentação; estes produtos são o resultado da fermentação dos substratos solúveis e insolúveis, o que é uma vantagem sobre o método tradicional em que não considera o substrato solúvel. Este método pode ser usado para determinar a importância das diferentes frações dos alimentos em prover energia para

os microrganismos e identificar compostos que inibam a atividade microbiana no rúmen.

## 2.8.DIGESTIBILIDADE

Os efeitos da utilização de diferentes silagens sobre o desempenho dos animais dependem da qualidade da silagem e da disponibilidade de nutrientes. Segundo Roston e Andrade (1992), os valores de digestibilidade da energia e da proteína de uma forragem são os principais parâmetros para avaliação do seu valor nutritivo. Entretanto, Milford (1960) relatou que o conteúdo e a digestibilidade da proteína bruta, bem como o consumo e a digestibilidade da matéria seca, são os critérios mais importantes para exprimir o valor nutritivo de gramíneas tropicais.

Alimentos de baixa digestibilidade podem reduzir a ingestão de matéria seca, em decorrência da baixa taxa de desaparecimento ruminal e passagem pelo trato gastrintestinal.

Oliveira et al., (2010) em estudo comparando silagem de diversas gramíneas tropicais encontrou valores para a silagem de milho 29,2% de MS, 6,1% de PB, 60,7% de FDN, 40,3% de FDA e 5,9% de lignina, e para silagem de sorgo forrageiro 24,1% de MS, 6,1% de PB, 65% de FDN e 48% de FDA e 6,1% de lignina. Mostrando que a silagem de sorgo pode ter valor nutritivo muito próximo à silagem de milho.

Brunette et al.(2014) mostraram em estudos anteriores que, em relação à silagem de milho, as vacas alimentadas com silagem de milheto da variedade pérola com alto teor de carboidrato solúvel em água (CSA) apresentaram maior consumo de FDN, rendimentos similares de leite e gordura no leite e eficiência alimentar semelhante, mas menor rendimento de proteína do leite (BRUNETTE et al., 2014).

Em geral, os valores nutritivos e a digestibilidade das forragens diminuem rapidamente com o avanço da maturidade (ELIZALDE et al., 1999). No entanto, o milheto colhido no dia 96 teve um teor de FDN menor ou semelhante em comparação com o milheto colhido no dia 56 (Hassanat et al., 2006; LeBlanc et al., 2012), enquanto a digestibilidade in vitro do FDN foi reduzida em apenas 8% (HASSANAT et al., 2006).

Harper et al.(2017) encontraram que a silagem de milheto apresentou maior concentração de FDN em comparação à silagem de milho, semelhante aos resultados de Hassanat et al. (2007) e Mustafa et al. (2004), que relataram 59 e 61% de FDN, respectivamente, encontrou também que a concentração de lignina foi semelhante entre silagem de milheto e silagem de milho. A lignina é encontrada na parede celular da planta,

e sua associação com celulose e hemicelulose diminui a digestibilidade do FDN (VAN SOEST, 1994). Harper et al. (2017) encontraram ainda que o teor de proteína bruta foi maior na silagem de milho em comparação com a silagem de milho. A concentração de potássio foi maior na silagem de milho, o que seria uma desvantagem ao tentar diminuir o DCAD da dieta em vacas pré-parto para diminuir o risco de hipocalcemia (CHARBONNEAU et al., 2006).

Amer e Mustafa (2010) relataram maior consumo de FDN para vacas em lactação alimentadas com silagem de milho versus silagem de milho. A digestibilidade aparente do amido neste experimento foi de cerca de 99%, enquanto a digestibilidade do FDN foi de aproximadamente 40%. Houve um aumento de > 6% na digestibilidade aparente do FDN ( $P < 0,001$ ) e FDA ( $P = 0,02$ ) para o tratamento com silagem de milho. Provavelmente, isso é causado por 2 fatores. Primeiro, a digestão da celulose diminui com o menor pH ruminal (ØRSKOV & FRASER, 1975) e, embora não tenham medido diretamente o pH ruminal, é provável que o pH ruminal tenha sido menor em vacas alimentadas com dieta controle, baseada em silagem de milho e alfafa, devido ao maior teor de amido do dieta controle (LECHARTIER & PEYRAUD, 2011). Segundo, os componentes das fibras de silagem de milho foram provavelmente mais facilmente digeríveis devido a menos lignina por unidade de FDN, indicando o potencial de menos reticulações de lignina com celulose e hemicelulose nessa forragem colhida precocemente, conforme suportado pelos dados *in situ* abaixo (MERTENS, 1985; CHERNEY et al., 1991; GRABBER et al., 2009).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRICULTURE ENVIRONMENTAL RENEWAL CANADA (AERC) (2007). Canadian sweet sorghum hybrid (CSSH 45). Retrieved from <https://agriculture-environmental-renewal-canada.myshopify.com/CSSH45Englishmarch182007.doc>
- ALMEIDA, L.S. **Valor nutritivo dos capins *brachiaria humidicola* e *brachiaria decumbens* em diferentes solos e épocas do ano no estado do Acre.** 2009. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal). Universidade Federal do Acre, Rio Branco – Acre, 2009.
- ANDREWS, D.J.; RAJEWSKI, J.F.1995. Reading, characteristics and use of pearl millet. **In:** First National Grain Pearl Millet Symposium. Proceedings... Georgia. Tifton. p. 1-4,1995.
- ANDRIGUETTO, J. M.; MINARDI, I.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. A. **Nutrição animal.** São Paulo: Nobel, 1983. v. 1, 395 p.
- ASHBELL, G.et al. The effect of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silage. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.**, New York, v. 28, p. 261-263, 2002.
- AUERBACH, H.; OLDENBURG, E.; WEISSBACH, F. Incidence of *Penicillium roqueforti*, and Roquefortine C in silages. **Journal Science of Food and Agriculture**, v,76. P.565-572, 1998.
- BARROS, J.F.C & CALADO, J.G. **A Cultura do milho.** Texto de apoio para as Unidades Curriculares de Sistemas e Tecnologias Agropecuários, Tecnologia do Solo e das Culturas, Noções Básicas de Agricultura e Fundamentos de Agricultura Geral. Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia - Departamento De Fitotecnia.2014.
- BASSO, F. C. 2009. Estabilidade aeróbia de silagens de planta e de grãos úmidos de milho. **Dissertação** (M.Sc.). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal.
- BERNARDES, T.F., R.N. SILVEIRA, R.M. COAN E R.A. REIS. 2002. Características fermentativas e presença de levedura na cana-de-açúcar crua ou queimada ensilada com

- aditivo. Em: 39 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Recife, 2002.  
**Anais...**
- BOGDAN, A.V. **Tropical pasture and fodder plants: grasses and legumes**. London: Logman, 1977. 475p.
- BOLSEN, K.K., C. LIN, B.E. BRENT, A.M. FEYERHERM, J.E. URBAN AND W.R. AIMUTIS. 1992. Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. *Journal Dairy Science.*, 75: 3066-3083
- BRANDÃO, V.L.N. **Produção e Valor Nutritivo e Forrageiras do Gênero Brachiaria Submetidas a Frequências de Pastejo Fixa ou Variável**. Dissertação (Pós-Graduação em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa. 49f. Viçosa, MG, 2015.
- BRUNETTE , T.; BAURHOO ,B.; MUSTAFA, A. F. Replacing corn silage with different forage millet silage cultivars: Effects on milk yield, nutrient digestion, and ruminal fermentation of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science.** 97 :6440–6449 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-7998>. 2014.
- BUENO, I.C.S. **Cinética digestiva e síntese microbiana ruminal em ovinos alimentados com feno de três qualidades distintas**. 97f.Tese (Doutorado em Ciência Animal)-Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP,2002.
- BUMBIERIS JR, V. H.; OLIVEIRA, M. R.; BARBOSA, M. A. F.; JOBIM, C. C. Use of winter cultures for forage conservation. In: International Symposium on Forage Quality and Conservation, 2., São Pedro, 2011. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, p. 65-83, 2011. Disponível em: <http://www.isfqcbrazil.com.br/proceedings/2011/use-of-winter-cultures-forforage-conservation--55.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2020.
- BUSO, W.H.D.; MACHADO, A.S.; SILVA, L.B.; FRANÇA, A.F.S. Uso do milheto na alimentação animal. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia-PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 22, Ed. 169, Art. 1136, 2011.
- CHARBONNEAU, E.; PELLERIN,D.; OETZEL, G. R. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. **Journal Dairy Science.** 89:537–548. 2006.

CHERNEY, J. H.; CHERNEY, D. J.R.; AKIN, D. E.; AXTELL, J. D. Potential of brown-midrib, low-lignin mutants for improving forage quality. **Advances in Agronomy**. 46:157–198. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60580-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60580-5). 1991.

COSTA, K.A. de P.; ROSA, B.; OLIVEIRA, I.P. de; CUSTÓDIO, D.P.; SILVA, D.C. e. Efeito da estacionalidade na produção de matéria seca e composição bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, p.187-193, 2005.

DAMASCENO, L.A. **Crescimento e períodos de decomposição de plantas de cobertura e seus efeitos sobre a supressão de plantas infestantes no Amazonas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Amazonas, 2013.

DAVIES D.R. Silage Inoculants - Where Next?. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CONSERVAÇÃO DE FORRAGENS, 14, 2010, Brno. **Anais...** Brno, 2010, p.32-39.

DIAS, A.M.A.; BATISTA, A.M.V.; FERREIRA, M.A. et al. Efeito de estágio vegetativo do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) sobre a composição química da silagem, consumo, produção e teor de gordura do leite para vacas em lactação, em comparação à silagem de milho (*Zea mays*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6, p.2086-2092, 2001.

DRIEHUIS, F.; WIKSELAAR, P.G.; VUUREN, A.M. et al. Effect of a bacterial inoculant on rate of fermentation and chemical composition of high dry matter grass silages. **Journal of Agricultural Science**, v.128, p.323-329, 1997.

DRIEHUIS, F.; WILKINSON, J. M.; JIANG, Y.; OGUNADE, I.; ADESOGAN, A. T. Silage review: animal and human health risks from silage. **Journal Dairy Science**, Amsterdam, v. 101, n. 5, p. 4093-4110, 2018.

ELIZALDE, J. C.; MERCHEN, N. R.; FAULKNER, D. B. In situ dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. **Journal Dairy Science**. 82:1978–1990. 1999.

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Forrageiras- espécies para a Região Sul do Brasil**. Brasília, DF. 2006. Disponível em <<https://www.embrapa.br/clima-temperado/forrageiras>> Acesso em 15 de fev de 2019.

EMBRAPA. **Cultivo do Milheto**. Sistema de Produção, 3. ISSN 1679-012X. Abr/2016. Disponível em: [https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistem](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistem)

asdeproducaolf6\_1galceportlet&p\_p\_lifecycle=0&p\_p\_state=normal&p\_p\_mode=view  
&p\_p\_col\_id= column-2&p\_p\_col\_count=1&p\_r\_p\_-  
76293187\_sistemaProducaoId=8101&p\_r\_p\_- 996514994\_topicoId=9018 Acesso em 01  
de fev 2021.

EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. Silagens: do cultivo ao silo. Lavras: UFLA, 2000. 196p

EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. Utilização de silagens de girassol na alimentação animal. In: I SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2001. Maringá. **Anais...** Maringá, p.177-217, 2001.

EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. **Aditivos para silagem.** 2010.  
Disponível em <  
<http://www.editora.ufla.br/index.php/component/phocadownload/category/56-boletins-de-extensao?download--=1173:boletins-extensao>> Acesso em 15 de fev de 2020

FAO. (2017). FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nation. Retrieved from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 5, p. 3937-3951, 2018.

FERREIRA, D. J.; LANA, R. P.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M.; VELOSO, C. M.; RIBEIRO, G. A. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus bovis*. *Animal Feed Science and Technology*, v. 18, n. 1, p.22-28, 2013.

FINK-GREMMELS, J. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: **A review.** *Food Additives & Contaminants*, v.25, n.2 p.172-180, 2008.

FREITAS, C. A. S., ANJOS, A. J., ALVES, W.S., MACÊDO, A.J.S., COUTINHO, D.N., BARCELOS, M.P., ABREU, M.J., CONCEIÇÃO, M.W.L. Realocação de silagens em propriedades rurais: uma abordagem sobre o estado da arte. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, e12091210860, 2020.

FREITAS, E.G. Milheto na produção de leite. **Agropecuária Catarinense**, v.1, n.2, p.20 - 22, 1988.

- GARCIA, L.F. **Avaliação in vitro de diferentes aditivos sobre a emissão de metano, a degradabilidade da matéria seca, a produção de gases, e as concentrações de amônia e ácidos graxos voláteis.** 45f. Dissertação (Programa de Pós Graduação do Mestrado Profissional em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.
- GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K. et al. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. **Agricultural and Food Science.**, Berlin, Germany, v.22: p.168 – 181, 2013.
- GETAQCHEW, G; PUTNAM, D.H; BEN, C.M & PETERS, E.J. (2016). Potential of sorghum as an alternative to corn forage. *American Journal of Plant Sciences*, 7, 1106-1121.
- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analysis. **Agricultural handbook** No. 379. Washington, D.C.: U.S.D.A., 1970.
- GRABBER, J. H.; MERTENS, D. R.; KIM, H.; FUNK, C.; LUA, F.; RALPHA, J. Cell wall fermentation kinetics are impacted more by lignin content and ferulate cross-linking than by lignin composition. **Journal Science Food Agriculture.** 89:122–129. 2009.
- GUIMARÃES, C.G.; BONFÁ, C.S.; EVANGELISTA, A.R.; SANTOS, A.S.; PANTOJA, L.A.; CASTRO, G.H.F. Fermentation characteristics of elephant grass silages with macaúba cake. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 40, e42523, 2018.
- HARPER, M. T. J.; GIALLONGO, O.F.; LOPES, J.C.; ROTH, G.W.; HRISTOV, A.N. Using brown midrib 6 dwarf forage sorghum silage and fall-grown oat silage in lactating dairy cow rations. **Journal Dairy Science.** 100:5250–5265. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12552>. 2017.
- HASSANAT, F.; MUSTAFA, A. F.; SEGUIN, P. Chemical composition and ensiling characteristics of normal and brown midrib pearl millet harvested at two stages of development in southwestern Quebec. **Canadian Journal of Animal Science.** 86:71–80. 2006.
- JUNGES, D. **Aditivo microbiano na silagem de milho em diferentes tempos de armazenamento e avaliação da estabilidade aeróbia por termografia em**

**infravermelho.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2010.

KANDLER, O.; WEISS, N. Lactobacillus. **In:** SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986.

KEPLIN, L. 2006. Produção de silagem de qualidade e uso de inoculantes. Em: Encontro Técnico sobre Conservação de Forragens (Silagens), 2006. Nova Odessa. **Anais...** Instituto de Zootecnia. Nova Odessa.

KLEINSCHMIT, D. H.; KUNG JR, L. A meta-analysis of the effects of lactobacillus buchneri on the fermentation and aerobic stability of corn, grass and small grain silages. **Journal Dairy Science**, v.89, n. 10, p.4005–4013, out. 2006.

KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. **In:** BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) Silage science and technology. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p.305-360.

LECHARTIER, C.; PEYRAUD, J. L. The effects of starch and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed forage proportion. **Journal Dairy Science**. 94:2440–2454. 2011.

LIMA, M. L. M.; CASTRO, F. G. F.; TAMASSIA, L. F. M. Culturas não convencionais: girassol e milheto. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 7., 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1999. p. 167-195.

LIN, C.; BOLSEN, K.K.; BRENT, B.E. et al. Epiphytic micoflora on alfafa and whole-plant corn. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2484-2493, 1992.

LOURES, D.R.S.; GARCIA,R.; PEREIRA,O.G.; CECON, P.R.; SOUZA, A.L. Características do Efluente e Composição Químico-Bromatológica da Silagem de Capim-Elefante sob Diferentes Níveis de Compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1851-1858, 2003 (Supl. 2).

MARTINKOSKI, L.; VOGEL, G. F. Utilização de sorgo como alternativa na produção de silagem. *Revista Verde*, v.8, n. 5, p. 177 - 187, (Edição Especial) dezembro, 2013.

- MCDONALD, P., A.R. HENDERSON, & S.J.E. HERON. 1991. The biochemistry of silage. 2nd ed. **Chalcombe Publ.**, Marlow, England.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow: Chalcomb, 1991. 340 p.
- MELLO, R.; NÖRNBERG, J.L.; QUEIROZ, A.C.D. et al. Composição química, digestibilidade e cinética de degradação ruminal das silagens de híbridos de girassol em diferentes épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1523-1534, 2006.
- MERTENS, D. R. Effect of fiber on feed quality for dairy cows. Pages 209–224 **in** Proc. 46th Minnesota Nutrition Conference. Minnesota Agricultural Extension Service, St. Paul, MN. 1985.
- MILFORD, R. Criteria for expressing nutritional value of subtropical grasses. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.11, n.2, p.121-137, 1996.
- MINOCHA, J. L. Pearl millet cytogenetics. In: GUPTA, P. K.; TSUCHIVA. Chromosome engineering in plants genetics. **Amsterdam: Elsevier**, 1991. p. 599-611.
- MOORE, J. E.; MOTT, G. O. Fermentation tubes for invitro digestion of forages. **Journal of Dairy Science**, v. 59, p. 167-169, 1976.
- MORGADO,E.S.; EZEQUIEL, J.M.B.; HOMEN JÚNIOR, A.C.; GALZERAN, L. Potencial de produção de gás metano e dióxido de carbono in vitro dos ingredientes utilizados em dietas para ovinos. **Ciência Animal brasileira**, Goiania, v.14, n.4, p. 413-417, out./dez. 2013.
- MOSS, A. R.; JOUANY, J. P.; NEWBOLD, C. J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de Zootechnie**, v.49, p.231253, 2000.
- MOTT, G.O.; MOORE, J.E. Forage evaluation techniques in perspective. **In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE EVALUATION AND UTILIZATION**, 1970, Lincoln.Proceedings. Lincoln: Nebraska Center of Continuing Education, 1970. 10p
- MUCK, R. E.; NADEAU, E. M. G.; MCALLISTER, T. A.; CONTRERAS-GOVEA, F. E.; SANTOS, M. C.; KUNG JUNIOR, L. Silage review: recent advances and future uses of silage additives. **Journal Dairy Science**, Amsterdam, v. 101, n. 5, p. 3980-4000, 2018.

- MUCK, R.E. Potential of Energy Production from Conserved Forages. **In:** International Symposium on Forage Quality and Conservation, 2., São Pedro, 2011. Proceedings ... Piracicaba:FEALQ,2011.15p. Disponível em: <  
<http://www.isfqcbrasil.com.br/proceedings/2011/potential-of-energy-production-from-conserved-forages--52.pdf>>. Acesso em: 28 de jan. 2019.
- MUSTAFA, A. F.; HASSANAT, F.; SEGUIN, P. Chemical composition and in situ ruminal nutrient degradability of normal and brown midrib forage pearl millet grown in southwestern Québec. **Canadian Journal of Animal Science**. 84:737–740. 2004.
- NAVE, R.L.G. **Produtividade, valor nutritivo e características físicas da forragem do capim-xaraés [Brachiaria brizantha(Hochst ex A. RICH.)] em resposta a estratégias de pastejo sob lotação intermitente.** Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,2007.
- NEUMANN, M.; MÜHLBACH, P.R.F.; NÖRNBERG, J.L.; OST, P.R., RESTLE, J.; SANDINI,I.E.; ROMANO, M.A. Características da fermentação da silagem obtida em diferentes tipos de silos sob efeito do tamanho de partículas e da altura da colheita das plantas de milho. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.847-854, 2007.
- NEUMANN, M.; RESTLE, J.; ALVES FILHO, D.C. et al. Avaliação do valor nutritivo da planta e da silagem de diferentes híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.1, p.293-301, 2002.
- NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington, DC: **National Academy of Sciences**,2001.
- ØRSKOV, E. R.; FRASER, C. The effects of processing of barleybased supplements on rumen pH, rate of digestion and voluntary intake of dried grass in sheep. **British Journal of Nutrition**. 34:493–500.1975.
- ORTIZ, S., SIMIONATTO, C.C.; BERTONCELLI, P.; MARTIN, T.N.; MENEZES, L.F.G.;KUSSF. Diferentes micros silos para avaliação experimental de silagem de milho e sorgo. **Seminário: Sistemas de Produção Agropecuária- Ciências Agrárias, Animais e Florestais-** UTFPR Campus Dois Vizinhos, 2009.

- PATERNIANI, E., NASS, L.L., SANTOS, M.X. dos. (2000) O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C.W.; DUARTE, W. (Org). Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos. Brasília: Paralelo 15, Cap.1, p.11- 14.
- PATERSON, J.A.; BELYEA, R.L. et al. The impact of forage quality on supplementation regimen on ruminant animal intake and performance. **In:** FAHEY Jr., G.C. (Ed.). Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.59-114.
- PEDROSO, A. F. Aditivos químicos e microbianos como inibidores da produção de etanol em silagens de cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.). 120p. **Tese** (Doutorado em agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba,2003.
- PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1063-1073, 1993.
- PEREIRA FILHO, I.A.; FERREIRA, A.S.; COELHO,A.M.; KARAM,D. CRUZ,J.C.; WAQUIL,J.M. Manejo da Cultura do Milheto. **Circular técnica** 29. P.65.2003. Sete Lagoas, MG.
- PEREIRA, O. G. et al. Produtividade e Valor Nutritivo de Aveia (*Avena Sativa*), milheto (*Pennisetum americanum* L.) e de um híbrido de *Sorghum bicolor* x *S. sudanense*. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 22, n. 1, p. 22-30, 1993.
- PERRET, V.; SCATENA, C.M. **Milheto: um cereal alternativo para os pequenos agricultores do Sertão da Bahia**. Salvador: EMATER-BA/EMBRAPA-CPATSA, 1985. 103 p. il. (EMATER-BA. Pesquisa e Desenvolvimento, 9).
- RABELO, C. H. S.; BASSO, F. C.; LARA, E. C.; JORGE, L. G. O.; HÄRTER, C.J.; MARI, L. J.; REIS, R. A. Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant or probiotic on in vitro organic matter digestibility, gas production and volatile fatty acids of low dry-matter whole-crop maize silage. **Grass and Forage Science**, Hoboken, v. 72, n. 3, p. 534-544, 2017.

- RIBEIRO, M.C.V.D., PIRES, A.V., SIMAS, J.M.C., SANTOS, F.A.P., SUSIN, I., OLIVEIRA JUNIOR, R.C. Substituição do grão de milho pelo milheto (*Pennisetum americanum*) na dieta de vacas holandesas em lactação. *Revista Bras. Zootec.* 33 (5) • Out 2004.
- RODRIGUES, P.H.M.; PEDROSO, S.B.G.; MELOTTI, L.; ANDRADE, S.J.T.; LIMA, F.R. Composição Bromatológica e Perfil Fermentativo da Silagem de Capim-Elefante Obtida em Diferentes Tipos de Silos Experimentais e no Silo Tipo Trincheira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2386-2392, 2002.
- ROONEY, L. W., & WANISKA, R. D. (2000). Sorghum food and industrial utilization. In C. W. Smith & R. A. Frederiksen (Eds.), *Sorghum: Origin, history, technology, and production* (Vol. 2, pp. 689–729). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
- SANTIN, T. P.; FRIGERI, K.D.M.; AGOSTINI, A.; SILVA, H.R.; FRIGERI, K.D.M.; KALLES, N.Z.; COELHO, E.M.; DIAS, A.M. Características fermentativas e composição química da silagem de sorgo (*Sorghum bicolor*) com uso de aditivos absorventes. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 6, n. 8, p.54931-54943 aug. 2020.
- SANTOS, A.X.; SILVA, L.D.F.; LANÇANOVA, J.A.C.; RIBEIRO, E.L.A.; MIZUBUTI, I.Y.; FORTALEZA, A.P.S.; HENZ, E.L.; JÚNIOR, F.L.M. Fracionamento de carboidratos e proteínas, cinética de degradação ruminal in vitro pela técnica de produção de gás, de rações suplementares contendo torta de girassol. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.1, p.234-242, 2017.
- SCHMIDT, P.; NUSSIO, L. G.; QUEIROZ, O. C. M.; SANTOS, M. C.; ZOPOLLATTO, M.; TOLEDO FILHO, S. G.; DANIEL, J. L. P. Effects of *Lactobacillus buchneri* on the nutritive value of sugarcane silage for finishing beef bulls. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 43, n. 1, p. 8-13, 2014.
- SILVA, F.A.; FREITAS, F.C.L.; ROCHA, P.R.R.; CUNHA, J.L.X.L.; DOMBROSKI, J.L.D.; COELHO, M.E.H.; LIMA, M.F.P. Milho para ensilagem cultivado nos sistemas de plantio direto e convencional sob efeito de veranico. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 327-340, jan./fev. 2015

- SIQUEIRA GR. Aditivos Associados à Ensilagem. In: Reis RA, Bernardes TF, Siqueira GR. Forragicultura: ciência, tecnologia e gestão de recursos forrageiros. 1st ed. Jaboticabal-SP: Funep; 2013. p. 689-698.
- SKERMAN, P.J.E F. RIVEROS. 1990. **Tropical grasses**. FAO. Roma. 832 p.
- STORM, I. M.L.D.; KRISTENSEN, N.B.; RAUN, B.M.L. et al. Dynamics in the microbiology of maize silage during whole-season storage. **Journal of Applied Microbiology**, v.109, n.3, p.1017-1026, 2010.
- TABACCO, E.; PIANO, S.; REVELLOCHION, A.; BORREANI, G. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.5589-5598, 2011. DOI: 10.3168/jds.2011-4286.
- TEIXEIRA, F.A; AMIN, W.G.; PAULA, M.S. Avaliação da produtividade das silagens de girassol, milho, sorgo e milheto em diferentes espaçamentos. **Nucleus**, v. 6, p. 1-14, 2009.
- VAN SOEST, P. J. 1982. **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd ed. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY. 1994.
- VILELA, D. Aditivos para silagem de plantas de clima tropical. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1988, Botucatu. Anais... Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p.73- 111.
- WANG, J.; HESKETH, J. D.; WOOLLEY, J. T. Preexisting channels and soybean rooting patterns. **Soil Science**, Philadelphia, v. 141, n. 6, p. 432-437, 1986.
- WATSON, S.J.; NASH, M.J. **The conservation of grass and forage crops**. 2 ed., Edinburgh: Publicado por Oliver e Boyd, 1960. 758p.
- ZIMMER, A.H.; MACEDO, M.C.M.; KICHEL, A.N.; ALMEIDA, R.G. Degradação, Recuperação e Renovação de Pastagens. **Apostila de Capacitação em Recuperação de Pastagens Degradadas**, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande - MS, 2013.

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

## CAPÍTULO. 1 - AVALIAÇÃO DO TIPO DE SILO ASSOCIADO OU NÃO A ADITIVOS SOBRE O VALOR NUTRICIONAL, ESTABILIDADE AERÓBICA E MICROBIOLOGIA DA SILAGEM DE MILHETO

**Resumo** - O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tipo de silo (silo saco (sem vácuo) vs. PVC) com a utilização (milho moído ou inoculante microbiano) ou não de aditivos sobre composição química, produção de gás *in vitro*, pH, perdas, estabilidade aeróbica e população microbiana da silagem de milho. Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados em um esquema fatorial 2 × 3, sendo dois tipos de silos (silo saco e silos de PVC) e três aditivos ([Control, CON] sem aditivo; 50 g de milho moído[MM] por kg de material ensilado; e 2 g/t de forragem de inocuante (*Lactobacillus plantarum* [ $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g] e *Propionibacterium acidipropionici* [ $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g,]), com cinco repetições por tratamento. Para determinação do valor nutricional foram realizadas as análises químicas e a produção de gás *in vitro* das silagens. As perdas foram determinadas somente dos silos PVC. Além disso, foram determinados a estabilidade aeróbica, pH e população microbiana das silagens. A utilização de MM no processo de ensilagem promoveu melhoria da composição química das silagens. Já o tipo de silo observamos que nos silos tipo PVC houve redução no teor de carboidratos ( $P < 0.05$ ). A cinética de produção de gás não foi afetada ( $P > 0.05$ ) pelo aditivos e nem pelo tipo de silo. Os aditivos não influenciaram ( $P > 0.05$ ) as perdas por gases, efluentes e a recuperação da matéria seca. Mesmo comportamento observado no pH, temperatura e perdas de matéria seca. Entretanto, o tipo de silo afetou o pH ( $P = 0.0002$ ), os silos de PVC tiveram valores menores que os silos saco. Os aditivos e o tipo de silo não afetaram ( $P > 0.05$ ) a população de bactérias do ácido láctico e fungos. Mas, os silos saco apresentaram maior quantidade de mofo (kg) por massa ensilada em relação ao silo PVC. Assim, a utilização de milho moído melhorou o valor nutricional da silagem de milho. Por sua vez, o inoculante propiciou melhor estabilidade aeróbica da silagem de milho. O silo saco (bag) sem vácuo não se mostrou eficiente no processo de ensilagem como os silos de PVC, resultando em uma silagem de qualidade inferior.

**Palavras-chave:** conservação, inoculante, valor nutritivo.

## 1. INTRODUÇÃO

O armazenamento da forragem utilizando a técnica de ensilagem recebe maior ênfase por parte dos produtores, por exigir tecnologia simples e apresentar excelentes resultados, sendo a confecção menos limitada por fatores climáticos, quando comparada com a fenação. Dentre várias espécies de forrageiras utilizadas na produção de silagem, o milho (*Pennisetum glaucum L.*) surge como opção, pois vem crescendo de importância no cenário do agronegócio brasileiro, principalmente nos sistemas de produção de leite e carne. A vantagem do milho está na adaptabilidade a climas mais secos e por possuir curto ciclo de produção quando comparada a outras culturas como, milho e sorgo. Apesar de no Brasil a cultura do milho estar ainda em crescimento (TRINDADE et al., 2017), em alguns países, como Índia e Nigéria, o cultivo é intenso e por isso é considerado o sexto cereal mais plantado no mundo (FAO, 2001).

Entretanto, o baixo teor de matéria seca do milho no momento da ensilagem, pode ser um limitante para a produção de silagem de boa qualidade, a alta umidade na planta pode promover o crescimento de microrganismos indesejáveis como os clostrídeos, resultando em perdas elevadas e produção de silagem de baixo valor nutricional (COSTA et al. 2018).

No processo de ensilagem um fator importante é a escolha do aditivo. Embora não haja dados oficiais, uma pequena parte dos fazendeiros no Brasil utiliza aditivos na ensilagem, e muitas vezes são influenciados por informações leigas ou comerciais (SCHMIDT et al., 2014) o que pode levar a frustrações técnicas e muitas vezes econômica. Os aditivos usados no processo de ensilagem devem elevar a recuperação de nutrientes e a energia da forragem, com conseqüente benefício no desempenho dos animais. Substâncias orgânicas ou inorgânicas, bióticas ou abióticas, tem sido estudada no intuito de modificar o processo fermentativo, reduzir perdas e/ou melhorar o valor nutricional das silagens (BORREANI et al., 2017).

Os inoculantes estão entre os principais aditivos utilizados no processo de ensilagem, tendo o objetivo de dominar a fermentação por meio da rápida produção de ácido láctico (bactérias homoláticas) e conseqüente redução do pH, inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis, outras bactérias como as heterofermentativas podem aumentar produção de ácido acético e propiônico (KUNG Jr. et al., 2003; ZOPOLLATTO et al., 2009; RÊGO et al., 2014). Existem no mercado diversas composições de

inoculantes, via de regra, os produzidos a partir de bactérias homoláticas são utilizados para melhorar o padrão fermentativo do material ensilado, enquanto inoculantes de bactérias heteroláticas são utilizados com o intuito de aumentar a estabilidade aeróbia (QUEIROZ, 2014; SILVA et al., 2011). Dentre as bactérias homoláticas o *Lactobacillus plantarum* é uma das mais utilizadas, devido seu vigoroso crescimento, tolerância ao meio ácido e potencial elevado de produção de ácido lático (MUCK, 2010). Já no grupo das bactérias heterofermentativas o *Propionibacterium acidipropionici* é utilizado pois utiliza o ácido lático e a glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos, sob-baixo pH (ZOPOLLATTO et al., 2009).

Além da utilização de aditivos microbiológicos, também são utilizados os aditivos sequestrantes de umidade, que além de corrigir o teor de matéria seca, podem ainda fornecer carboidratos solúveis e estimular a fermentação (TAVARES et al., 2009; RESENDE et al., 2015). O uso do milho moído tem sido descrito como um aditivo adsorvente importante na melhora da qualidade fermentativa e bromatológica de silagem de capim-elefante e também em outras forrageiras (ANDRADE et al., 1998; REZENDE et al., 2008; MONTEIRO et al., 2011). Sua utilização é justificada principalmente para suprir alguma deficiência característica da forrageira ensilada, como facilitar o processo de fermentação devido ao baixo teor de matéria seca (TONIN et al., 2018).

A eficácia de novos aditivos e das combinações entre aditivos devem ser avaliadas inicialmente utilizando silos em escala laboratorial (Johnson et al., 2005). Os silos experimentais (laboratoriais) tem a facilidade de manipulação, pois podem ser pesados, processados e analisados com maior precisão. Entretanto, para Cherney & Cherney (2003) os silos experimentais só podem ser utilizados se o processo de fermentação for razoavelmente semelhante ao que ocorre em silos de escala agrícola. Os silos de experimentais muito utilizados são aqueles confeccionados com tubos de policloreto de vinil (PVC) e apresentam válvula do tipo Bunsen que serve para o escape de gases. No entanto, silagens feitas em sacos plásticos também foram examinadas por alguns autores (JONES, 1970; CAI et al., 1997; JOHNSON et al., 2005), mas todos estes estudos foram utilizando bomba de sucção, porém, o vácuo exercido pela sucção pode afeta o perfil fermentativo e o valor nutricional (MAY et al., 2001). Na literatura há poucos trabalhos que utilizaram os sacos plasticos sem o vácuo no processo de ensilagem. Assim, hipotetizamos que as (1) valor nutricional da silagem e a estabilidade aeróbica será influenciada pelos diferentes tipos de silo e (2) a utilização de aditivos de diferente

natureza poderá modificar o valor nutricional da silagem e as perdas no processo de ensilagem.

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tipo de silo (Silo saco (sem vácuo) vs. PVC) com a utilização (milho moído ou inoculante microbiano) ou não de aditivos sobre composição química, produção de gás *in vitro*, pH, perdas, estabilidade aeróbica e população microbiana da silagem de milho.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. LOCALIZAÇÃO, PLANTIO E DESENHO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) - *Campus* Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil (21°48'09"S, 41°17'28"W and 12m altitude) e no Laboratório de Zootecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) - Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil (21°45'41"S, 41°17'27"W) and 10m altitude. O clima da região Norte Fluminense é classificado como Aw, isto é, clima tropical úmido, com verão chuvoso, inverno seco de acordo com a classificação climática de Köppen (2013), com precipitação anual em torno de 1.020 mm.

O plantio do milho (*Pennisetum glaucum* L.) cv. BRS 1501 foi realizado no *Campus* experimental da UFRRJ. A semeadura foi realizada em janeiro de 2019 de forma manual, as parcelas foram constituídas de cinco fileiras de 5 m de comprimento cada, com espaçamento entre fileiras de 0,70 m, foram utilizadas para o plantio 60 sementes por metro linear. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, sendo cinco blocos e cada bloco constituído de seis parcelas. Mediante análise de solo prévia da área foi utilizado 200 kg.ha<sup>-1</sup> da fórmula 08-28-16 de NPK na adubação.

### 2.2. TIPO DE SILO, ADITIVOS E DESENHO EXPERIMENTAL

O milho foi colhido manualmente em cada parcela, após 60 dias do plantio, em seguida, o material foi processado em máquina forrageira estacionária (Modelo JF Maxxium, JF Máquinas Agrícolas LTDA, Brazil) com tamanho médio de partícula de  $\pm 1.5$  cm.

Foram utilizados dois tipos de silo distintos para o processo de ensilagem, Plastic bags de polietileno de 51 cm de largura  $\times$  110 cm de comprimento e 200 micras e o Polyvinyl (PVC) com 150 mm de diâmetro  $\times$  50 cm de altura, contendo válvula de

Bunsen para escape dos gases. Nos silos de PVC foram colocados aproximadamente 600 g de areia seca separada por tecido de algodão para determinar as perdas por efluentes. Os silos bags e os silos de PVC foram embalados com densidade de 600 kg/m<sup>3</sup> (matéria natural ensilada), os silos bags foram fechados com abraçadeiras de nylon. Em seguida, todos os silos foram armazenados em temperatura ambiente de 25±2.3 °C durante 90 dias.

Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados em um esquema fatorial 2 × 3, sendo dois tipos de silos (silos bag e silos de PVC) e três aditivos ([Control, CON] sem aditivo; 50 g de milho moído [MM] por kg de material ensilado; e *Lactobacillus plantarum* [2.5 × 10<sup>10</sup> cfu/g] e *Propionibacterium acidipropionici* [2.5 × 10<sup>10</sup> cfu/g] Biomax corn, Lallemand, Saint-Simon, France [Micro]), com cinco repetições por tratamento. O milho moído (MS = 856.30; PB = 84.93; GB= 31.54; cinzas = 11.01; FDN = 77.30; FDA = 24.12; 8.16; CNF = 795.23; MS expressado em g/kg do alimento e os demais g/kg MS) foi misturado manualmente no material ensilado. Já o inculante microbiano foi utilizado conforme as recomendações do fabricante (2 g/t de forragem), sendo diluído em água e pulverizado sobre o material ensilado. Os aditivos foram adicionados separadamente em cada silo.

### 2.3.COMPOSIÇÃO QUÍMICA

As amostras da forragem antes da ensilagem e das silagens foram secas em estufa de ventilação forçada a ±55 °C por 72 horas. Após a obtenção da amostra seca ao ar, as amostras foram moídas em moinho tipo Wilye, com peneira de 1mm de crivo. Foram analisados os teores matéria seca total (MS, Método AOAC 967.03, AOAC, 1990), gordura bruta (GB, Método AOAC 2003.06; Thiex et al., 2003), matéria mineral (MM, Método AOAC 942.05, AOAC, 1990), teor de proteína bruta ([N×6.25]PB, Método AOAC 984.13 e Método AOAC 2001.11; Thiex et al., 2002), fibra insolúvel em detergente neutro utilizando a amilase termoestável sem a exclusão das cinzas (FDNa, Método AOAC 2002.04; Mertens, 2002), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Silva & Queiroz (2006) e lignina (Möller, 2009). O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi estimado como:

$$\text{CNF(g/kg)}=1000 - \text{PB} - \text{GB} - \text{Cinzas} - \text{FDN}.$$

A fração hemicelulose foi calculada pela diferença entre os teores de FDN e FDA, já a celulose pela diferença entre os teores de FDA e Lignina, expressos em g/kg DM.

## 2.4. CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS

Neste estudo foram utilizados três ovinos canulados. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais Experimentais, protocolo 419. Também está de acordo com os Princípios Éticos em Experimentação Animal adotados pela Sociedade Brasileira de Zootecnia em Laboratório/Escola Brasileira de Experimentação Animal da lei federal 11.794.

Foram utilizados três ovinos canulados com massa corporal de 45 kg (desvio padrão = 3.2 kg) como doadores do fluido ruminal. Estes animais foram mantidos em baias coletivas com comedouro e bebedouro. Antes das coletas do fluido ruminal os ovinos foram adaptados a uma dieta com feno de tifton 85 e concentrado (relação 80:20, volumoso:concentrado) para atender as exigências de manutenção por 14 dias. Após este período iniciaram-se as coletas do fluido ruminal, sendo realizadas momentos antes da alimentação diurna, conforme recomendado por Yáñez-Ruiz et al. (2016). O fluido ruminal (líquido e sólido) foi coletado em vários pontos da interface líquido-sólido do ambiente ruminal para cada bateria de incubação. Foi utilizada a solução tampão descrita por McDougall (1948), foram utilizado cerca de 500 mg (desvio padrão = 10 mg) de amostra das silagens adicionadas em frascos de penicilina âmbar juntamente com 50 ml do inóculo previamente preparado (relação 1:4, fluido ruminal e solução tampão, respectivamente). O espaço livre nos frascos foi imediatamente saturado com CO<sub>2</sub>, sendo esses fechados e levados ao banho maria com temperatura de 39°C. Durante o período de incubação os frascos foram agitados com o objetivo de homogeneizar todo o conteúdo.

Os perfis de tempo da produção de gás acumulado foram obtidos utilizando um dispositivo não automatizado similar ao utilizado por Abreu et al. (2014). As medições de pressão e volume foram realizadas nos tempos 0; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 16; 20; 24; 30; 36; 48; 72 e 96 horas após a adição do inóculo ruminal. A pressão e o volume cumulativo dos gases da fermentação foram obtidos somando-se as leituras corrigidas para o marco nos tempos subsequentes ao tempo zero.

Para estimar os perfis de produção cumulativa de gases foi utilizado o modelo proposto por Groot et al. (1996):

$$G = A / (1 + (B^c / t^c)) \quad \text{Eq.1}$$

$$R_M (mLh^{-1}) = B \times (C - 1)^{1/c} \quad \text{Eq.2}$$

Em que, o parâmetro  $G$  representa a quantidade de gás produzido por unidade de matéria seca (MS) incubada no tempo  $t$  após o período de incubação das amostras; o parâmetro  $A$  representa a produção de gás assintótica (mg/g MS); o parâmetro  $B$  é o tempo (h) após a incubação em que a metade do gás assintótico foi formado, representa a velocidade da produção de gás; o parâmetro  $C$  é uma constante que determina a nitidez da característica da alteração da curva.  $R_M$  representa a taxa máxima de produção de gás quando a população microbiana não limita o processo fermentativo e a digestão não é reduzida por barreiras químicas ou estruturais do material potencialmente digestível.

## 2.5.PERDAS FERMENTATIVAS E POR EFLUENTES

Para a determinação das perdas e recuperação da matéria seca foi utilizado somente os silos de PVC. As perdas foram calculadas conforme as equações propostas por Jobim et al. (2007):

As perdas foram calculadas conforme as equações propostas por Jobim et al. (2007):

As perdas de gás foram calculadas utilizando a equação 3:

$$G = (MSA - MSP) / (MFE \times MSE) \times 100 \quad \text{Eq.3}$$

Em que:  $G$  = perdas de gás (% matéria seca);  $MSA$  = massa do silo antes da ensilagem (kg);  $MSP$  = massa do silo após a abertura dos silos (kg);  $MFE$  = Massa de forragem na ensilagem (kg); e  $MSE$  = matéria seca ensilada (% matéria seca).

As perdas por efluentes foram calculadas de acordo com a equação 4:

$$EF = \{[(MSVa - MSV) - (MSVaa - MSV)] / MFE\} \quad \text{Eq.4}$$

Em que:  $EF$  = perdas de efluentes (kg / t de matéria fresca);  $MSVa$  = massa do silo vazio + massa de areia no fechamento (kg);  $MSV$  = massa do silo vazio;  $MSVaa$  = massa do silo vazio + massa de areia após a abertura (kg); e  $MFE$  massa de forragem na ensilagem (kg).

A recuperação da matéria seca foi calculada por meio da equação 5:

$$RMS = (MFA \times MSA) / (MFE \times MSE) \times 100 \quad \text{Eq.5}$$

Em que:  $RMS$  = recuperação de matéria seca (% MS);  $MFA$  = massa de forragem na abertura (kg);  $MSA$  = teor de matéria seca na abertura (%);  $MFE$  = Massa de forragem na ensilagem (kg); e  $MSE$  = matéria seca ensilada (% matéria seca).

## 2.6. TESTE DE ESTABILIDADE AERÓBICA

Para a avaliação da estabilidade aeróbica foi utilizado 2.0 kg de silagem, sendo esta acondicionada em sacos plásticos de aproximadamente 5.0 kg, onde permaneceu por sete dias em ambiente com temperatura controlada (25°C). A temperatura foi mensurada utilizando um data logger (Log 110 EXF Inconterm; Brazil) inserido porção central da massa ensilada em cada saco, o registro da temperatura foi realizado em intervalos de 8 horas. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo, em horas, até que as silagens apresentassem temperatura de 2 °C acima da temperatura ambiente (KUNG JR. et al., 2000).

Além disso, durante a avaliação da estabilidade aeróbica foram coletadas amostras de cada silo em intervalos de 24 horas para determinar a MS (Método AOAC 967.03, AOAC, 1990) (KUNG JR et al., 1984).

## 2.7. POPULAÇÕES MICROBIANAS e pH

Após a abertura de cada silo o material foi homogeneizado e retirado uma amostra de 25 g de silagem fresca e adicionada 225 mL de solução salina (8.5 g de NaCl/L de água destilada) e homogeneizada por 1 minuto em processador industrial. O extrato foi filtrado em dupla camada de gazes e mensurado o pH com o auxílio de um pHmetro (MPA-210, Tecnopon, Brazil) (KUNG JR., 1996). Uma alíquota de 10 mL do extrato aquoso foi submetida a diluições seriadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ). O cultivo dos microrganismos foi realizado em placas de Petri estéreis, para a contagem de enterobactérias utilizamos o meio de cultura VRB (Violet Red Bile) com tempo de incubação de 24 h à 37 °C; para a contagem dos fungos utilizamos o meio de cultura PDA (Potato Dextrose Àgar) com tempo de incubação de quatro dias à 25 °C e para a contagem de bactérias de ácido láctico utilizamos o meio de cultura MRS (De Man, Rogosa, Sharpe) com tempo de incubação de 48 h à 37 °C. Foram passíveis de contagem as placas que apresentaram entre 30 a 300 unidades formadoras de colônia (CFU). Para a avaliação e interpretação dos dados, os resultados obtidos foram transformados para base logarítmica ( $\log_{10}$  ufc).

## 2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes a composição química, perdas, estabilidade aeróbica, análise populações microbiana e produção cumulativa de gás foram analisados em blocos casualizados em esquema fatorial  $3 \times 2$  com cinco repetições. Os dados foram comparados por meio do teste de Tukey com nível de significância de 0.05, utilizando o pacote MIXED do SAS (version SAS University Edition, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + b_k + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijk}$  é o valor observado para a variável em estudo referente a  $k$ -ésima repetição da combinação do  $i$ -ésimo nível do fator  $\alpha$  com o  $j$ -ésimo nível do fator  $\beta$ ;  $\mu$  é média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;  $\alpha_i$  é a adição ou não de aditivos na silagem de milho com  $i = 1,2,3$ ;  $\beta_j$  é o efeito do tipo de silo com  $j = 1,2$ ;  $\alpha\beta_{ij}$  é a interação entre a adição ou não de aditivos e os tipo de silo;  $b_k$  é o efeito do  $k$ -ésimo bloco na observação;  $e_{ijk}$  é o erro associado a observação  $Y_{ijk}$ .

Os dados de recuperação de matéria seca e pH foram analisados como medida repetida no tempo, por meio de análise regressão com nível de significância de 0.05, utilizando o pacote MIXED do SAS (version SAS University Edition, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\tau_{ik} + \beta\tau_{jk} + \alpha\beta\tau_{ijk} + b_l + e_{ijkl}$$

Em que:  $Y_{ijkl}$  é o valor observado para a variável em estudo referente a  $l$ -ésima repetição da combinação do  $i$ -ésimo nível do fator  $\alpha$  com o  $j$ -ésimo nível do fator  $\beta$  na  $k$ -ésima hora;  $\mu$  é média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;  $\alpha_i$  é a adição ou não de aditivos na silagem de milho com  $i = 1,2,3$ ;  $\beta_j$  é o efeito dos tipo de silo com  $j = 1,2$ ;  $\tau_k$  é o efeito aleatório das horas de avaliação com  $k = 0,24,\dots,144$  para pH e  $0,8,16,\dots,162$  para temperatura;  $\alpha\beta_{ij}$  é a interação entre adição ou não de aditivos e o tipo de silo;  $\alpha\tau_{ik}$  é a interação entre adição ou não de aditivos e as horas de avaliação;  $\beta\tau_{jk}$  é a interação entre os métodos de ensilagem e as horas de avaliação;  $\alpha\beta\tau_{ijk}$  é a interação entre adição ou não de aditivos, métodos de ensilagem e as horas de avaliação;  $b_k$  é o efeito do  $l$ -ésimo bloco na observação;  $e_{ijkl}$  é o erro associado a observação  $Y_{ijkl}$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1.COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS

Não houve efeito de interação ( $P > 0.05$ ) entre aditivos e tipo de silo (Tabelas 1). A utilização do milho moído no processo de ensilagem aumentou os teores de PB ( $P = 0.0384$ ), CNF ( $P = 0.0004$ ) e GB ( $P = 0.0004$ ), além de reduzir os teores de cinzas ( $P = 0.0021$ ), FDN ( $P < 0.0001$ ), FDA ( $P = 0.014$ ), Lignina ( $P = 0.0007$ ), Hemicelulose ( $P = 0.007$ ) e Celulose ( $P = 0.0039$ ) (Tabelas 1 e 2). Entretanto, os aditivos não afetaram o teor de MS ( $P = 0.6502$ ) (Tabelas 1 e 2).

Ao analisarmos o tipo de silo observamos que nos silos tipo PVC houve aumento nos teor de GB ( $P = 0.0384$ ) e redução no teor de cinzas ( $P = 0.0042$ ), FDN ( $P = 0.0004$ ), CNF ( $P < 0.0001$ ) Hemicelulose ( $P = 0.0038$ ) e Celulose ( $P < 0.001$ ).

A cinética de produção de gás não foi afetada ( $P > 0.05$ ) pelo aditivos e nem pelo tipo de silo (Tabelas 1 e 3 e Figura 1).

#### 3.2.PERDAS FERMENTATIVAS E POR EFLUENTES

Não houve efeito de interação ( $P > 0.05$ ) entre aditivos e tipo de silo (Tabelas 1). Não houve efeito dos aditivos sobre as perdas por gases ( $P = 0.3871$ ), efluentes ( $P = 0.8371$ ) e sobre a recuperação da matéria seca ( $P = 0.8579$ ) (Tabelas 1 e 4). No entanto, os silos contendo milho moído produziram 59.56% mais gás que os silos sem aditivos e 60.69% que os silos contendo aditivo Micro (Tabela 4). A recuperação de matéria seca dos silos contendo milho moído foram 4.81% menos que silos sem aditivos e 3.64% que os silos contendo aditivo Micro (Tabela 4).

#### 3.3.TESTE DE ESTABILIDADE AERÓBICA

Não houve efeito de interação ( $P > 0.05$ ) entre aditivos e tipo de silo (Tabelas 1). Não houve efeito de aditivos sobre o pH ( $P = 0.7677$ ), temperatura ( $P = 0.5363$ ) e perdas de matéria seca ( $P = 0.6231$ ) (Tabelas 1 e 5). Mas, o tipo de silo afetou o pH ( $P = 0.0002$ ), os silos de PVC tiveram valores menores que os silos Plastic bags. Entretanto, não houve efeito do tipo de silo sobre a temperatura ( $P = 0.7002$ ) e as perdas de matéria seca ( $P = 0.3902$ ) (Tabelas 1 e 5).

### 3.4. POPULAÇÕES MICROBIANAS e Ph

Não houve efeito de interação ( $P > 0.05$ ) entre aditivos e tipo de silo (Tabelas 1). No silo Plastic bags sem aditivo houve aparecimento de enterobacterias  $5.27 \log_{10}/g$  fresh silage nos demais silos não houve presença. Não houve efeito dos aditivos sobre a população de bactérias do ácido lático ( $P = 0.8178$ ) e fungos ( $P = 0.54$ ). O tipo de silo não afetou as população de bactérias do ácido lático ( $P = 0.3598$ ) e fungos ( $P = 0.2462$ ) (Tabelas 1 e 6). Entretanto, os silos bags apresentaram maior quantidade de mofo (kg) por massa ensilada em relação ao silo PVC (Tabelas 1 e 6).

Nos silos bags que receberam aditivos o pH aumentou 2 pontos (3.5 para 5.5) nas primeiras 24 horas (Figura 2A), comportamento diferente do silo de PVC que aumentou somente 1 ponto (3.5 para 4.5) com a adição do Micro (Figura 2B). A temperatura nos silos bags aumentou a  $2^{\circ}\text{C}$  em aproximadamente 18 horas independente dos aditivos (Figura 2C), nos silos de PVC este aumento foi com 36 horas quando foi utilizado aditivos (Figura 2D).

## 4. DISCUSSÃO

A ensilagem é um dos momentos mais críticos de todo o processo de confecção da silagem, pois se refere às boas práticas de acondicionamento, armazenagem e vedação do silo para garantir a fermentação adequada, a conservação e a manutenção da qualidade da biomassa trazida da lavoura. Nesta fase o potencial de qualidade da silagem proveniente de boas lavouras pode ser perdido em decorrência de erros no processo. Um outro fator importante sobre a utilização ou não de aditivos, isso depende de um conhecimento prévio sobre o desafio que a forragem apresenta para ser ensilada, e como os aditivos em questão funcionam e interferem no processo.

Assim, ao avaliarmos a composição química das silagens observamos que o teor de MS na silagem não foi afetado ( $P = 0.6502$ ) com o uso de aditivos, possivelmente a quantidade utilizada não foi suficiente para alterar o teor de MS da silagem. Apesar do milho moído possuir alto teor de MS e ter grande capacidade de absorver a umidade da silagem (Andrade and Melotti, 2004). Entretanto, melhorou a composição química da silagem de milheto, com o aumento dos teores de PB, GB, CNF e a redução da fração

indigestível (lignina) (Tabela 2). É possível que essa mudança do valor nutricional esteja associada ao aditivo. Esta melhoria na qualidade nutricional da silagem proporcionada pelo uso do milho moído como aditivo também foi observado por Rezende et al. (2015) e Bezerra et al. (2019). O tipo de silo também influenciou na qualidade da silagem de milho (Tabela 2). Os silos de PVC apresentaram maiores teor de cinzas, provavelmente devido a uma menor perda por gases e efluentes nos silos bags esteja associada a este aumento, devido ao desaparecimento da matéria orgânica (Ashbell and Weinberg, 1992; Borreani et al., 2017). Entretanto, o aumento no teor de CF não está claro. A redução no teor de FDN no silo PVC, pode ser justificada pela manutenção da condição anaeróbica mais adequada em relação aos silos bags. Um problema do polietileno é quanto a permeabilidade ao oxigênio, ou seja, ocorrem trocas gasosas entre a silagem e o meio externo, ocorrendo entrada de oxigênio mesmo sem o Plastic bags apresentar danos físicos (AMARAL et al., 2014). Quanto ao CNF, para Bernardes et al. (2017) a maior exposição da silagem ao oxigênio nos silos Plastic bags possibilitou o aumento de microrganismos indesejáveis como por exemplo o mofo (Tabela 6), estes microrganismos tem sua atividade intensificada na presença de carboidratos solúveis, ácidos e proteínas o que resulta em um aumento no pH da silagem (Tabela 5). A degradação da hemicelulose e do amido por muitos anos foi negligenciada (Ning et al., 2017), no entanto, alguns estudos demonstraram que ocorre degradação dos mesmos no processo de ensilagem (MUCK, 1990; CHEN et al., 2015). Melvin (1965) e Yahaya et al. (2001) indicaram que os produtos da degradação da hemicelulose (xilose) e do amido (glicose) podem servir como substratos para os microrganismos produzirem ácidos durante o processo de ensilagem. Neste estudo, observamos a redução nos teores de hemicelulose e celulose quando adicionamos o MM, este achado corrobora com os estudos feitos por Melvin (1965); Yahaya et al. (2001) e Ning et al. (2017) em que, os carboidratos estruturais podem servir como substratos microbianos para a produção de ácidos durante o processo de ensilagem.

A técnica da produção de gás *in vitro* pode refletir com grande acurácia a digestibilidade *in vivo* dos alimentos em ruminantes, sendo rápida e de baixo custo (PRASAD et al., 1994; KITESSA et al., 1999; NIDERKORN & BAUMONT, 2009). Para Nshlai et al. (1994) a composição química dos substratos incubados pode influenciar na produção de gás, porém, neste estudo apesar de observamos a mudança na composição química em relação aos fatores analisados, não encontramos efeito dos diferentes aditivos e do tipo de silo sobre a produção de gás (Tabela 3, Figura 1). Outro fato a ser observado seria as concentrações de proteína bruta, pois Bach et al. (2005) observaram que abaixo

de 70 g/kg pode restringir a atividade microbiana devido à falta de nitrogênio. Os altos teores da fração indigestível da fibra (lignina) pode ter contribuído para a redução do volume do gás cumulativo das silagens, devido a menor disponibilidade de carboidratos fermentescíveis no rúmen. Entretanto, Getachew et al. (2004) chamam a atenção pelo fato do efeito da fermentação da FDN tornar-se menos importante à medida que seus níveis decrescem, devido ao aumento do CNF, com isso, ocorre a mudança do perfil da produção cumulativa de gás, cuja taxa de degradação é maior causando um pico de fermentação. Nós observamos que apesar de não haver diferença ( $P = 0.1960$ ) o tempo gasto para que a metade do gás assintótico fosse formado foi menor (8.864 ~9 h) quando utilizamos o milho moído (Tabela 3). As taxas de produção gás tiveram um pico nas primeiras horas de incubação, sendo maior nos silos bags, porém, teve a menor a taxa final (Figura 1A, C e E), ao contrário dos silos de PVC, que tiveram a taxa inicial menor, mas uma taxa de produção final maior (Figura 1B,D e F).

A produção de silagem de alta qualidade e a redução das perdas é um desafio, apesar de algumas dessas perdas serem inevitáveis (Borreani et al., 2017). Neste estudo avaliamos somente as perdas do silo PVC e observamos que os aditivos não afetaram as perdas por gases, por efluentes e na recuperação da MS (Tabelas 1 e 4). Entretanto, quando inoculamos o Micro na silagem, observamos menor perda de gases em relação a silagem sem aditivo (2.79% [5.57/5.73]) e a silagem com milho moído (60.69% [5.57/14.17]). As perdas por gases estão associadas ao tipo de fermentação que ocorre durante o processo de ensilagem. Quando a fermentação ocorre por bactérias homofermentativas (*Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*), a glicose é utilizada como substrato produzindo ácido lático, promovendo perdas menores. Todavia, quando a fermentação se dá por bactérias heterofermentativas é produzido além do ácido lático, gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) e etanol culminando em significantes perdas por gases ( $1 \text{ glicose} \rightarrow 1 \text{ ácido lático} + 1 \text{ etanol} + 1 \text{ CO}_2$ ). As maiores produções de gases estão associadas à presença de enterobactérias ( $1 \text{ glicose} \rightarrow 1 \text{ ácido lático} + 1 \text{ etanol} + 2 \text{ CO}_2 + \text{H}_2$ ), destacando-se que a fermentação butírica é ocasionada por bactérias do gênero *Clostridium* (McDonald et al., 1991; Muck, 2010). No caso deste estudo, a utilização de milho moído gerou uma perda gás muito grande, que provavelmente seja devido a maior quantidade carboidrato solúvel disponível para o processo fermentativo. As perdas por efluentes teve comportamento semelhante a perda por gases (Tabela 4). Segundo McDonald et al. (1991) produção de efluentes representam perdas do valor nutricional da silagem, culturas com alto teor de umidade (acima de 75%) na ensilagem apresentam

maiores perdas por efluentes. Apesar de produzir cerca de 6.4% mais efluentes que a silagem sem aditivo, a utilização do milho moído proporcionou melhoria na qualidade nutricional da silagem (Tabela 2). A recuperação da MS não foi influenciada pela utilização de aditivos neste estudo, porém, observamos que o Micro reduziu com maior eficiência (3.64% [88.64/91.99]) as perdas fermentativas em relação ao milho moído. Para Borreani et al. (2017) de forma geral, os inoculantes homofermentativos são eficientes na redução de perdas de MS. Além disso, a recuperação de MS é altamente afetada pelas perdas por gases e por efluentes no material ensilado, sendo inversamente proporcional, ou seja, nos tratamentos com maiores perdas por produção de gases e por efluentes, a recuperação de matéria seca é menor (PACHECO et al., 2014).

Quando o processo de ensilagem é realizado, tem como principal objetivo manter a qualidade original da forrageira colhida. A ocorrência de um bom processo fermentativo auxilia na manutenção da estabilidade aeróbica e garante que a silagem mantenha sua qualidade por um tempo maior (MUCK, 2010). A estabilidade aeróbia da silagem pode ser conceituada como a resistência da massa de forragem a deterioração após a abertura do silo, ou seja, a velocidade com que a massa deteriora após exposta ao ar (Jobim et al., 2007). Assim, ao analisarmos o presente estudo observamos que a temperatura da silagem não foi afetada pelos inoculantes ( $P = 0.5363$ ) e tão pouco pelo tipo de silo ( $P = 0.7002$ ).

Entretanto, ao longo das 168 horas houve efeito dos aditivos ( $P < 0.05$ ) entre o tipo de silo (Figuras 2 C e D). Nós observamos neste estudo que nas primeiras 36 horas houve o pico de temperatura na silagem produzida no silo Plastic bags, já a silagem feita no silo de PVC o pico de temperatura foi em 54 horas. Para Woolford (1990), o aumento inicial da temperatura é causado pelo crescimento de leveduras e fungos filamentosos, porém, após algum tempo, segundo Muck & Pitt (1992), a elevação do pH (acima de 5.0) pode propiciar o crescimento de bacilos que podem causar um segundo aumento de temperatura do material. Este fato foi observado neste estudo (Figura 2 A e B). O tipo de silo influenciou ( $P = 0.0002$ ) o pH, sendo que a silagem no silo PVC foi mais baixa que nos silos bags (Tabela 1). Os silos bags (polietileno) podem apresentar permeabilidade ao oxigênio, em uma temperatura de 25 °C, a troca gasosa entre o interior do silo e do ambiente é por volta de 1 litro/m<sup>2</sup>, sendo que este valor é de um Bag íntegro e sem danos físicos (GREENHILL, 1964). Isto pode tornar a silagem mais propensa à deterioração aeróbia devido ao aumento da permeabilidade dos Bags, pois a aeração desta massa permite a ação de leveduras que oxidam os ácidos orgânicos conservantes da silagem, podendo desencadear a degradação aeróbia e a elevação do pH. Neste estudo, a silagem

dos silos bags aumentaram de 3.5 para 5.5 (2.0 pontos) em 24 horas, já a silagem nos silos de PVC teve aumento de 2.0 no pH em 72 horas (Figuras 2A e B). Em relação as perdas de MS, esta variável não foi afetada pela utilização de aditivos ( $P = 0.6231$ ) nem pelo tipo de silo ( $P = 0.3902$ ), apesar disso, a silagem nos silos PVC teve maiores perdas (CON = 38.41%; GC = 39.91%). Entretanto, a silagem nos silos PVC com a adição do Micro teve menores perdas (17.71%). O *Lactobacillus plantarum* um dos inoculantes utilizado neste estudo tem objetivo de para aumentar a produção ácido láctico, conseqüentemente, reduzir a perda de MS durante e fermentação (MCDONALD et al., 1991; MUCK, 2010).

A composição microbiológica do material ensilado tem grande influência sobre a qualidade da silagem produzida. Para que o processo de ensilagem seja realizado com sucesso, além de ter a fermentação láctica, alguns microrganismos que são indesejáveis ao processo devem ser inibidos, são eles: *Clostridium sp*, enterobactérias, leveduras e fungos (MUCK, 2010). Neste estudo, observamos contagens para enterobactérias somente no silo Plastic bags sem aditivo, este fato está relacionado ao crescimento ativo das Bactérias do ácido láctico (BAL's) durante o processo fermentativo, pois a redução do pH para valores entre 3.8 a 5.0, favorecendo o declínio da população de enterobactérias rapidamente, tornando-se as BAL's os principais microrganismos na silagem (MCDONALD et al., 1991). Neste estudo, não foi observado efeito dos aditivos tão pouco do tipo de silo ( $P > 0.05$ ) sobre a microbiologia da silagem, com exceção da quantidade de mofo (g/kg) em relação ao tipo de silo (Tabelas 1 e 6). A presença de oxigênio favorece o crescimento de leveduras, fungos e bactérias que produzem ácido acético na silagem, a partir dos produtos da fermentação e dos açúcares da silagem, resultando na produção de CO<sub>2</sub>, água e calor (MUCK, 2010). À medida que os produtos da fermentação são utilizados, o pH aumenta (Tabela 5, Figura 2A). O pH acima de 5.0 favorece grande variedade de outros microrganismos aeróbios se desenvolverem, causando aquecimento (Figura 2C) e reduzindo a qualidade de silagem (MCDONALD et al., 1991; MUCK, 2010). Assim, observamos que a utilização do silo Plastic bag na confecção da silagem causa uma maior exposição da silagem ao oxigênio, resultando em maior deterioração da silagem. Para Kung Jr et al. (2018) a quantificação de leveduras e mofos na silagem é muito útil, pois grandes quantidades de leveduras na silagem geralmente está associado a altas concentrações de etanol e pode ser inversamente relacionado com a estabilidade aeróbica, este fato também foi observado neste estudo (Figura 2C). Apesar de não ter sido diferente estatisticamente ( $P = 0.2462$ ) os silos bags tiveram 31.55% a mais de fungos que nos silos PVC sem a utilização de aditivos (Tabela 6). Embora neste estudo, não tenha

ocorrido efeito dos aditivos ( $P = 0.8178$ ) tão pouco do tipo de silo ( $P = 0.3598$ ), a utilização dos aditivos aumentou a população de BAL's nas silagens. As BAL's apresentam papel fundamental no processo de ensilagem, pois além de inibir o crescimento de microrganismos deterioradores, possibilitam uma maior recuperação da energia dos carboidratos fermentados por meio da produção de ácido lático. Ressaltando dessa forma a importância da utilização de algum tipo de aditivo no processo de ensilagem, sendo eles utilizados como ferramentas que ajudam a assegurar que o processo de ensilagem fique dentro dos limites aceitáveis (MUCK, 2010; BORREANI et al., 2017).

## **5. CONCLUSÕES**

A utilização de milho moído (50 g por kg de material ensilado) melhorou o valor nutricional da silagem de milho, por outro lado, maximizou as perdas principalmente de gases, além de promover aquecimento da silagem. Por sua vez, o inculante propiciou melhor estabilidade aeróbica da silagem de milho.

O silo Plastic bag sem vácuo não se mostrou eficiente no processo de ensilagem como os silos de PVC, resultando em uma silagem de qualidade inferior.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, R.C.; SANTOS, M.C.; DANIEL, J.L.P.; SÁ NETO, A.; BISPO, A.W.; CABEZAS-GARCIA, E.H.; BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G. 2014. The influence of covering methods on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 43(9):471-478.
- ANDRADE, S. J. T. AND MELOTTI, L. 2004. Effect of some additives on the quality of elephant grass (*Pennisetum purpureum*, Schum) silage. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** 41:409-415.
- ASHBELL, G., AND Z. G. WEINBERG. 1992. Top silage losses in horizontal silos. **Canadian Agricultural Engineering** 34:171-175.
- BERNADES, T.F.; DANIEL, J.L.P.; ADESOGAN, A.T.; MCALLISTER, T.A.; DROUIN, P.; NUSSIO, L.G.; HUHTANEN, P.; TREMBLAY, G.F.; BÉLANGER, G.; CAI, Y. 2017. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. **Journal of Dairy Science**, 101:4001-4019. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13703>
- BEZERRA, H.F.C; SANTOS, E.M.; OLIVEIRA, J.S.; CARVALHO, G.G.P.; PINHO, R.M.A.; SILVA, T.C.; PEREIRA, G.A.; CASSUCE, M.R.; ZANINE, A.M. 2019. Fermentation characteristics and chemical composition of elephant grass silage with ground maize and fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria. **South African Journal of Animal Science**, 49:522-533. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v49i3.13>.
- BORREANI, G.; TABACCO, E.; SCHMIDT, R.J.; HOLMES, B.J.; MUCK, R.E. 2017. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, 101:3952-3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>.
- CAI, Y.; OHMOMO, S.; OGAWA, M. & KUMAI, S. 1997. Effect of NaCl-tolerant lactic acid bacteria and NaCl on the fermentation characteristics and anaerobic stability of silage. **J Appl Microbiol** 83:307-313.
- CHEN L., GUO G., YU C.Q., ZHANG J., SHIMOJO M., SHAO T. 2015. The effects of replacement of whole-plant corn with oat and common vetch on the fermentation quality, chemical composition and aerobic stability of total mixed ration silage in Tibet. **Animal Science Journal**, 86: 69-76.
- COSTA, R.R.G.F.; COSTA, K.A.P.; SOUZA, W.F.; EPIFANIO, P.S.; SANTOS, C.B.; SILVA, J.T.; OLIVEIRA, S.S. 2018. Production and quality of silages pearl millet and paiaguas palisadegrass in monocropping and intercropping in different forage systems. **Biosci. J.**, 34:357-367.
- FAO – Food and Agriculture Organization. 2001. **Millet, information on post-harvest operations**. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-av009e.pdf> . Acesso em 10 de setembro de 2020.
- GREENHILL, W.L. 1964. Plant juice in relation to silage fermentation. I – The role of the juice. **Journal of the British Grassland Society**, 19:30-37.

- JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A.; SCHMIDT, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36:101-119.
- JOHNSON, H.E.; MERRY, R.J.; DAVIES, D.R.; KELL, D.B.; THEODOROU, M.K.; & GRIFFITH, G.W. 2005. Vacuum packing: a model system for laboratory scalesilage fermentations. **J Appl Microbiol** 98:106–113 .
- JONES D.I.H. 1970. The ensiling characteristics of different herbage species and varieties. **J Agric Sci** 75:293 –300.
- MAY, L. A., B. SMILEY, & M. G. SCHMIDT. 2001. Comparative denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities associated with whole plant corn silage. **Can. J. Microbiol.** 47:829–841.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. 1991. The biochemistry of silage. 2.ed. Marlow: **Chalcomb Publications**, 340p.
- MELVIN J.F. 1965. Variations in the carbohydrate content of lucerne and the effect on ensilage. **Australian Journal of Agricultural Research**, 16:951-9.
- MUCK, R.E. 1990. Dry matter level effects on alfalfa silage quality. II. Fermentation products and starch hydrolysis. **American Society of Agriculture and Engineer**, 33:373-81.
- MUCK, R.E.; PITT, R.E. 1992. Aerobic losses at the silo face. **American Society of Agriculture and Engineer**, 92, p.1003.1992.
- MUCK, R.E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39:183-191.
- NING, T.; WANG, H.; ZHENG, M.; NIU, D.; ZUO, S.; XU, C. 2017. Effects of microbial enzymes on starch and hemicellulose degradation in total mixed ration silages. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, 30:171-180.
- RANJI, T. N.K. AND KUNG JR, L. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* or chemical preservative on the fermentation and stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, 83, 526–535.
- REZENDE, A.V.; RABELO, C.H.S.; SILVA, M.R.M.; HÄRTER, C.J.; VEIGA, R.M. 2015. Wasted cabbage (*Brassica oleracea*) silages treated with different levels of ground corn and silage inoculant. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 44(8):296-302.
- SCHMIDT, P.; SOUZA, C.M.; BACH, B.C. 2014. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar? **In:** Jobim, C.C.; Cecato, U.; Canto, M.W.; Bankuti, F.I (eds.), Simpósio: Produção e utilização de forragens conservadas, 5.ed., Maringá, 2014. Anais... Maringá: UEM, 2014. p.243-264.
- SILVA, D.J. & QUEIROZ, A.C., 2002. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

- TAVARES, V.B.; PINTO, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; FIGUEIREDO, H.C.P.; ÀVILA, C.L.S.; LIMA, R.F. 2009. Effects of different compaction degrees, inclusion of absorbent additive and wilting on the chemical composition of tanzania grass silages. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38:40-49.
- TRINDADE, J.S.; SAENZ, E.A.C.; DIAS, M.; BANYNS, V.L.; DIAS, F.J.S.; PINHEIRO, A.A. 2017. Produtividade do milho em três densidades de semeadura e duas alturas de corte. **Ciência Animal Brasileira**, 18, 1-10.
- VALLE, F.R.A.F.; FONTES, C.A.A.; FERNANDES, A.M.; OLIVEIRA, T.S.; PROCESSI, E.F.; SILVA, R.S.T. 2020. Performance, digestibility, microbial protein synthesis, and body composition of Brangus x Zebu steers on tropical pasture receiving supplementation. **Tropical Animal Health and Production**, 52:2491–2498.
- YAHAYA M.S., KIMURA A., HARAI J., NGUYEN, H. V.; KAWAI, M., TAKAHASHI, J.; MATSUOKA, S. 2001. Effect of length of ensiling on silo degradation and digestibility of structural carbohydrates of lucerne and orchardgrass. **Animal Feed Science and Technology**, 92: 141-8.
- WOOLFORD, M.K. 1990. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, 68:101-116.

## TABELAS

Tabela 1 – Valores de P relativos às variáveis medidas analisadas para os efeitos dos aditivos, métodos de ensilagem e interação entre estes.

Variáveis	Aditivos	Métodos	Interação
Matéria seca, g/kg de alimento	0.6502	0.8644	0.3864
Proteína bruta, g/kg	0.0384	0.5053	0.7284
Gordura bruta, g/kg	0.0004	0.0391	0.5212
Cinzas, g/kg	0.0021	0.0042	0.3999
Fibra insolúvel em detergente neutro, g/kg	<0.0001	0.0004	0.0810
Fibra insolúvel em detergente ácido g/kg	0.014	0.3525	0.9632
Carboidratos não fibrosos, g/kg	<0.0001	0.0004	0.0717
Lignina, g/kg	0.0007	0.6600	0.4455
Hemicelulose, g/kg	0.0007	0.0038	0.3286
Celulose, g/kg	0.0039	<0.0001	0.1377
Parâmetro A (Produção de gás), mg/g MO	0.5944	0.7991	0.9322
Parâmetro B (Produção de gás), h	0.1960	0.9280	0.3943
Parâmetro C (Produção de gás)	0.2603	0.9875	0.7434
Perda de gases, % MS	0.3871	-	-
Perdas de efluentes, kg/t matéria fresca	0.8371	-	-
Recuperação de matéria seca, % MS	0.8579	-	-
Temperatura, °C	0.5363	0.7002	0.4652
pH	0.7677	0.0002	0.7836
Perdas de matéria seca, g/kg	0.6231	0.3902	0.5591
Mofo, kg de massa ensilada	0.1194	0.0003	0.0755
Mofo, % de massa ensilada	0.1814	0.0613	0.0884
Bactérias do ácido, log <sub>10</sub> /g silagem fresca	0.8178	0.3598	0.8871
Fungos, log <sub>10</sub> /g silagem fresca	0.5400	0.2462	0.1130

MS = Matéria seca. Métodos = Métodos de ensilagem (Bag = Silo Bag [51 × 110 cm e 200 micras] e PVC = Policloreto de vinila).

Tabela 2- Efeitos de aditivos e métodos de ensilagem na composição química da silagem de milho.

Variáveis	CON	MM	Micro	SEM
MS				
Bag	272.9	259.7	269.71	3.938
PVC	256.68	271.74	278.52	4.298
PB				
Bag	63.38 b	71.64 a	62.76 b	2.274
PVC	68.38 b	74.78 a	61.39 b	2.224
GB				
Bag	18.21 Bb	23.02 Ba	18.80 Bb	0.802
PVC	20.47 Ab	27.26 Aa	19.83 Ab	0.944
Cinzas				
Bag	10.86 Aa	9.9 Ab	10.95 Aa	0.223
PVC	9.92 Ba	8.15 Bb	10.32 Ba	0.251
FDN				
Bag	623.56 Aa	553.18 Ab	639.19 Aa	10.940
PVC	589.67 Ba	459.87 Bb	610.3 Ba	13.817
FDA				
Bag	390.91 a	343.89 b	404.37 a	7.793
PVC	381.72 a	325.69 b	385.33 a	9.177
CNF				
Bag	283.99 Bb	342.26 Ba	268.32 Bb	9.340
PVC	311.57 Ab	429.94 Aa	298.16 Ab	11.859
LIG				
Bag	41.98 a	37.23 b	42.77 a	0.781
PVC	42.25 a	33.94 b	43.84 a	1.125
Hemic				
Bag	232.65 Aa	209.29 Ab	234.82 Aa	5.038
PVC	207.95 Ba	171.12 Bb	224.97 Ba	5.439
Cel				
Bag	348.93 Aa	306.66 Ab	361.23 Aa	7.086
PVC	339.46 Ba	256.87 Bb	341.49 Ba	9.594

CON = Controle; MM= Milho moído; Micro = *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g); Bag =silo saco (51 × 110 cm e 200 micras); PVC = cloreto de polivinila; SEM = Erro padrão da média; MS = Matéria seca; PB = proteína bruta; GB = Gordura bruta; FDN = fibra detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; CNF = carboidrato não fibroso; LIG = Lignina Hemic = Hemicelulose; e Cel = Celulose, todos expressos em g/kg.

\*As médias seguidas das diferentes letras maiúsculas em uma coluna e as letras das linhas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 3 – Efeitos dos aditivos nos parâmetros de produção de gás da silagem de milho.

Variáveis	CON	SE	MM	SE	Micro	SE
Parâmetro A, mg/g MO						
Bag	29.039	2.011	28.830	3.236	29.352	1.377
PVC	27.953	2.424	28.69	1.98	28.543	2.716
Parâmetro C						
Bag	0.857	0.0390	0.932	0.1039	0.884	0.0310
PVC	0.813	0.0513	0.974	0.0745	0.829	0.0574
Parâmetro B, h						
Bag	48.592	8.174	32.728	9.835	41.650	4.737
PVC	41.609	9.395	23.867	3.977	41.978	10.215

CON = Controle; MM = Milho moído; Micro = *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g); Bag = Saco Silo (51 × 110 cm e 200 micras); PVC = cloreto de polivinila; MO = Matéria Orgânica; SE = Erro padrão.

\*As médias seguidas das diferentes letras maiúsculas em uma coluna e as letras das linhas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 4 – Efeitos dos aditivos nas perdas e recuperação de matéria seca da silagem de milho.

Variáveis	COM	MM	Micr	SEM
Perdas de gases, % DM	5.73	14.17	5.57	1.572
Perdas de efluentes, kg/t matéria fresca	1.17	1.25	1.13	0.049
Recuperação de matéria seca, % MS	93.12	88.64	91.99	2.552

CON = Controle; MM = Milho moído; Micro = *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g); Bag = Saco Silo (51 × 110 cm e 200 micras); PVC = cloreto de polivinila; SEM = Erro padrão da média; MS = Matéria seca.

\*As médias seguidas das diferentes letras maiúsculas em uma coluna e as letras das linhas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 5 – Efeitos de aditivos e métodos de ensilagem na estabilidade aeróbia de sete dias da silagem de milho.

Variáveis	CON	MM	Micro	SEM
Temperatura, h				
Bag	32.05	32.36	31.47	0.222
PVC	32.52	31.81	32.01	0.193
pH				
Bag	5.34 A	5.49 A	5.66 A	0.098
PVC	4.81 B	4.78 B	4.82 B	0.118
Perdas de matéria seca, g/kg				
Bag	79.06	54.64	86.91	9.141
PVC	128.37	90.94	71.51	15.901

CON = Controle; MM= Milho moído; Micro = *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g); Bag = Saco Silo (51 × 110 cm e 200 micras); PVC = cloreto de polivinila; SEM = Erro padrão da média.

\*As médias seguidas das diferentes letras maiúsculas em uma coluna e as letras das linhas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 6 – Efeitos de aditivos e métodos de ensilagem na microbiologia da silagem de milho.

Variáveis	CON	MM	Micro	SEM
Bactérias do ác. Láctico, log <sub>10</sub> /g silagem fresca				
Bag	6.66	7.12	6.89	0.191
PVC	6.15	6.30	6.71	0.347
Fungos, log <sub>10</sub> /g silagem fresca				
Bag	7.32	5.56	5.64	0.286
PVC	5.01	7.46	7.66	0.409
Mofo, kg de massa ensilada				
Bag	1.41 A	0.33 A	0.58 A	0.084
PVC	0.05 B	0.11 B	0.12 B	0.016
Mofo, % de massa ensilada				
Bag	9.75	2.57	3.97	0.293
PVC	1.6	1.48	4.01	0.528

CON = Controle; MM= Milho moído; Micro = *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g); Bag = Saco Silo (51 × 110 cm e 200 micras); PVC = cloreto de polivinila; SEM = Erro padrão da média.

\*As médias seguidas das diferentes letras maiúsculas em uma coluna e as letras das linhas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

## FIGURAS

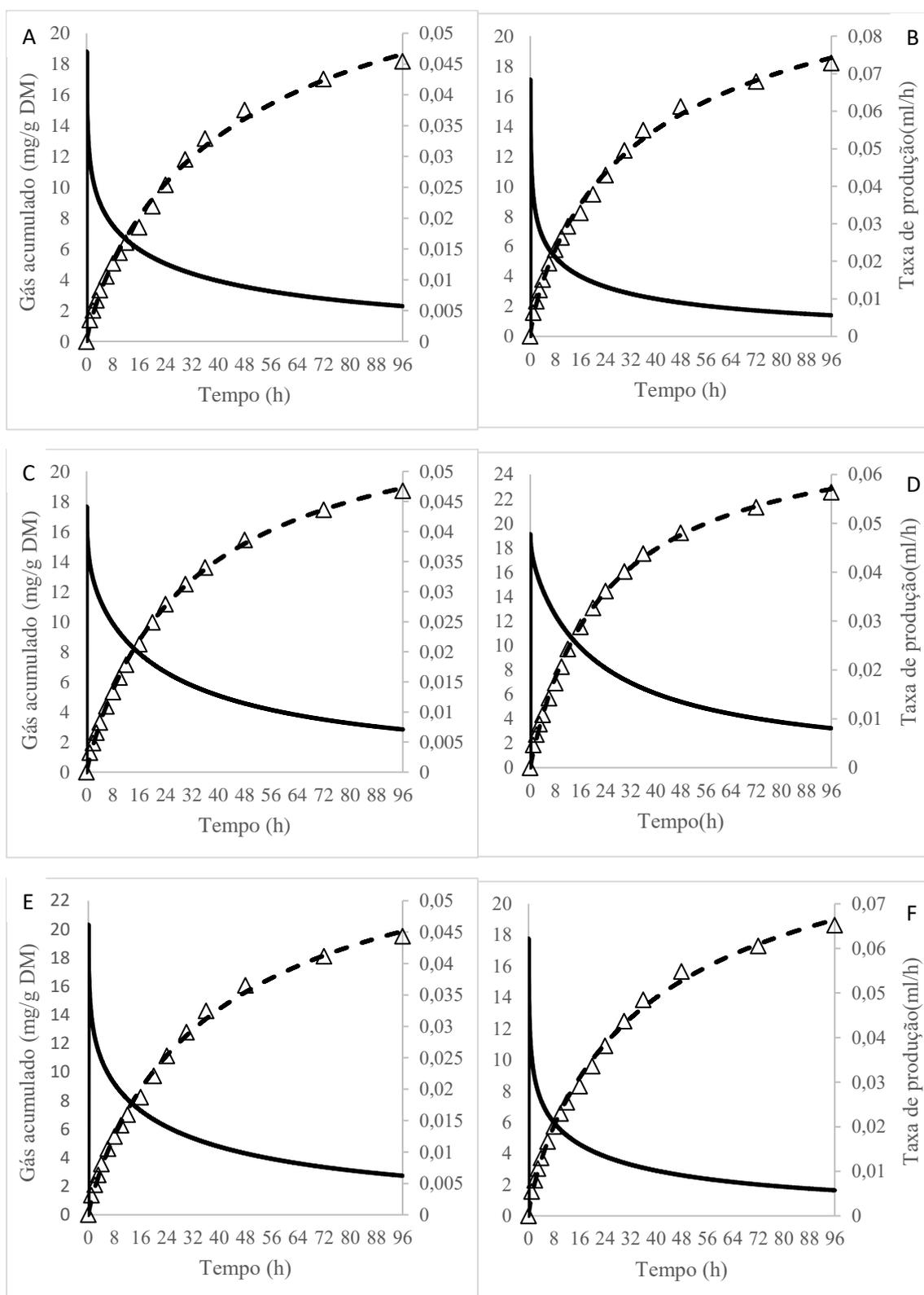


Figura 1 - Perfis de produção cumulativa de gás e taxa de produção de gás da silagem de milho com diferentes aditivos e métodos de ensilagem. No painel (A) Bag CON; (B) PVC CON; (C) S=Bag com milho moído; (D) Milho moído no PVC; (E) Bag *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g); e (F) PVC *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g).

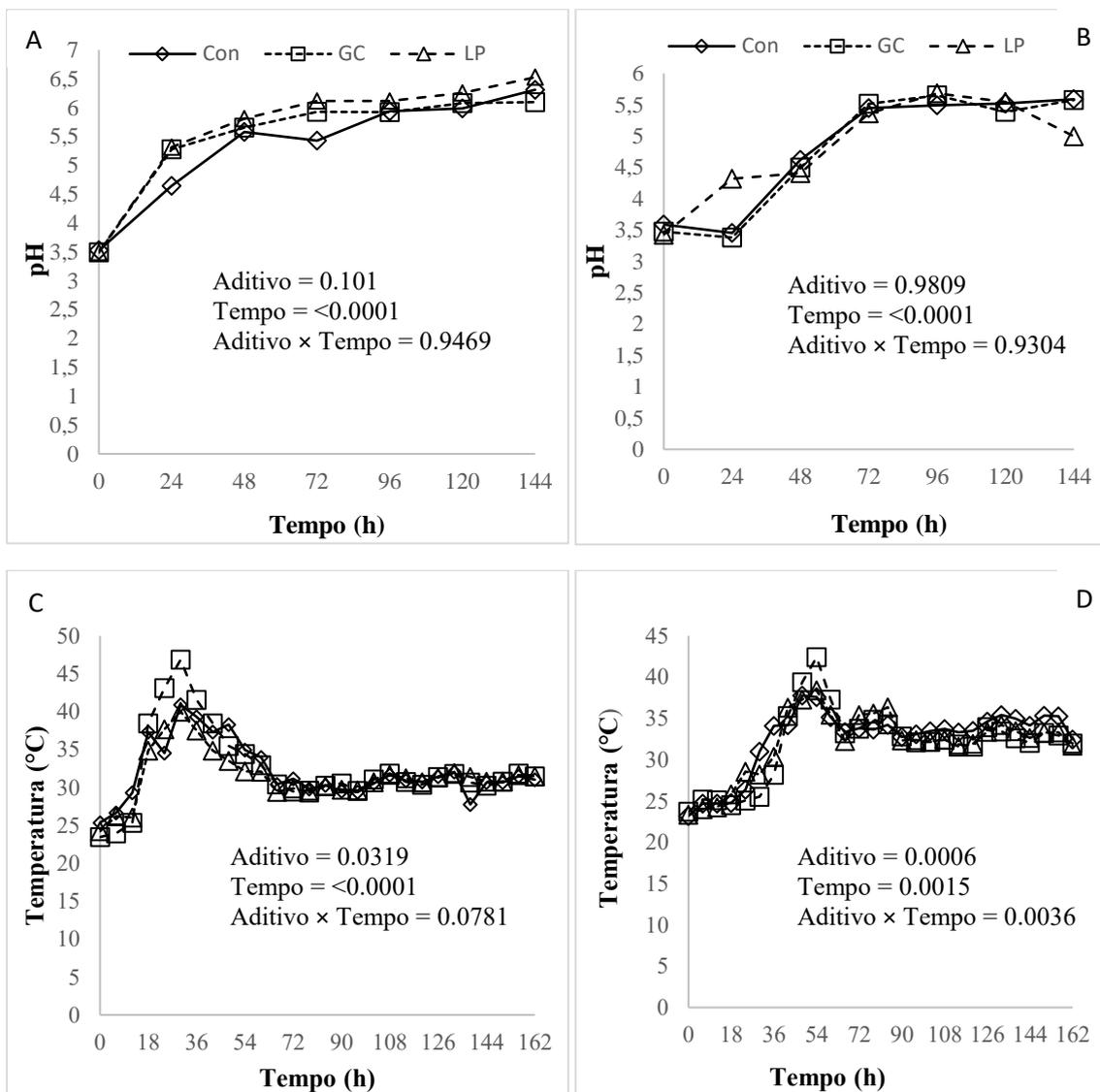


Figura 2 - Valores de pH e temperatura da silagem de milho com diferentes aditivos e métodos de ensilagem por sete dias. CON = Controle; MM = Milho moído; Micro= *Lactobacillus plantarum* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g) e *Propionibacterium acidipropionici* ( $2,5 \times 10^{10}$  ufc/g); Bag = Saco Silo (51 × 110 cm e 200 micras); PVC = cloreto de polivinila. No painel (A) Bag; (B) PVC; (C) Bag; e (D) PVC.

## CAPÍTULO. 2 – EFEITO DE QUITOSANA SOBRE O PERFIL FERMENTATIVO DE SILAGENS DE MILHO, MILHETO E SORGO

**Resumo** - O objetivo com o presente estudo foi avaliar o efeito do aditivo microbiológico (*Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*), quitosana e o blend (aditivo microbiológico e quitosana) na composição química, digestibilidade *in vitro*, perfil fermentativo, perdas, estabilidade aeróbia e população microbiana de silagens de milho, milheto e sorgo. Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados em um esquema fatorial 3 × 4, sendo três culturas (milheto, milho e sorgo) e quatro aditivos: Controle (sem aditivo), aditivo microbiológico (*Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* -  $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g - Biomax milho, Lallemand, Saint-Simon, France [Micro]), quitosana [Polymar Industria, Ceará, Brasil] 1%/kg de material ensilado) e Blend (Quitosana [0,5%] mais aditivo microbiológico [2 g/t de forragem]), com cinco repetições por tratamento. Para determinação do valor nutricional foram realizadas as análises químicas e a produção de gás *in vitro* das silagens. Além disso, foram determinados a estabilidade aeróbica, pH e população microbiana das silagens. Não houve efeito de interação ( $P > 0.05$ ) entre aditivos e tipo de cultura. A utilização do aditivo microbiológico diminuiu o pH nas silagen de milheto, milho e sorgo ( $P < 0.0001$ ), já entre as culturas a silagem de milheto teve um pH menor ( $P < 0.0001$ ) em relação as demais. Não houve efeito de aditivo ( $P = 0.0619$ ) e entre culturas ( $P = 0.3935$ ) sobre o N-NH<sub>3</sub>. Os aditivos não afetaram as perdas por gases ( $P = 0.3984$ ) e efluentes ( $P = 0.6891$ ) e tão pouco a recuperação de MS ( $P = 0.3019$ ). Não foi detectada presença de enterobactérias nas contagens bacterianas. A utilização de aditivos não afetou as populações de bactérias do ácido láctico ( $P = 0.9481$ ) e fungos ( $P = 0.0719$ ). A estabilidade aeróbica da silages de milheto ( $P = < 0.0001$ ), sorgo ( $P = 0.0019$ ) e milho ( $P = 0.0002$ ) foram afetadas pelos aditivos utilizado ao longo das horas ( $P < 0.05$ ). A quitosana melhorou a composição química das silagens.

**Palavras-chave:** conservação, antimicrobiano, valor nutritivo.

## 1. INTRODUÇÃO

O armazenamento da forragem utilizando a técnica de ensilagem recebe maior ênfase por parte dos produtores, por apresentar excelentes resultados. No entanto, alguns fatores devem ser levados em consideração e o principal deles é respeitar as características de cada cultura utilizada, que podem influenciar diretamente a qualidade da silagem. Especificamente para o processo de ensilagem, a qualidade final do alimento está diretamente relacionada ao material que lhe deu origem e às condições em que o mesmo foi ensilado (Loures et al., 2003; Jobim et al., 2007). O Brasil possui diversas espécies de forrageiras que possuem potencial para serem ensiladas, entre elas temos as culturas do milheto (*Pennisetum glaucum*), milho (*Zea mays*) e sorgo (*Sorghum bicolor*). O processo de ensilagem ocorre por meio do crescimento de microrganismos principalmente aqueles presentes na própria planta forrageira (microrganismos epifíticos), que utilizam os substratos da massa ensilada como os carboidratos, para produzir ácidos orgânicos que contribuem para a diminuição do pH, proporcionando a conservação da forragem (Muck, 2010; Borreani et al., 2018).

Outro fator importante no processo de ensilagem é a escolha do aditivo. Os aditivos usados no processo de ensilagem devem possibilitar maior produção de ácidos orgânicos e rápidas reduções no pH, isso para inibir efetivamente a atividade de *Clostridium sp.*, além de elevar a recuperação de nutrientes e a energia da forragem, com consequente benefício no desempenho dos animais (Hermann et al., 2011). Substâncias orgânicas ou inorgânicas, bióticas ou abióticas, tem sido estudada no intuito de modificar o processo fermentativo, reduzir perdas e/ou melhorar o valor nutricional das silagens (Borreani et al., 2018). Existem no mercado diversas composições de inoculantes, geralmente, os produzidos a partir de bactérias homoláticas são utilizados para melhorar o padrão fermentativo do material ensilado, enquanto inoculantes de bactérias heteroláticas são utilizados com o intuito de aumentar a estabilidade aeróbia (SILVA et al., 2011; QUEIROZ, 2014). Dentre as bactérias homoláticas o *Lactobacillus plantarum* é uma das mais utilizadas, devido ao seu vigoroso crescimento, tolerância ao meio ácido e potencial elevado de produção de ácido lático (MUCK, 2010). Já no grupo das bactérias heteroláticas o *Propionibacterium acidipropionici* é empregado, pois utiliza o ácido lático e a glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são

efetivos no controle de fungos em condições de baixo pH (ZOPOLLATTO et al., 2009).

A quitosana é um biopolímero obtido pela desacetilação parcial da quitina, o segundo biopolímero mais abundante na natureza, e o principal componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos (SENEL e MCCLURE, 2004). A atividade antimicrobiana da quitosana é bem conhecida contra bactérias e fungos (Senel e McClure, 2004), e tem sido utilizada como modulador ruminal (GOIRI et al., 2010). Recentemente, estudos avaliando a inclusão de quitosana em substituição de aditivos para melhoria do perfil fermentativo e na preservação da qualidade da silagem, foram iniciados, porém, ainda há um número pequeno de trabalhos publicados (GANDRA et al., 2016; GANDRA et al., 2018; DEL VALLE et al., 2017), apesar de demonstrarem resultados muito relevantes sobre a utilização da quitosana no processo de ensilagem, ainda são inconclusivos sobre sua eficiência (GANDRA et al., 2016; GANDRA et al., 2018; DEL VALLE et al., 2017).

Assim, nós hipotetizamos que: a) os aditivos afetariam positivamente o padrão fermentativo, o valor nutritivo e a estabilidade aeróbica das silagens de milho, milheto e sorgo e b) a quitosana reduziria a população de fungos e as perdas no processo de ensilagem. Diante disso, o objetivo com o presente estudo foi avaliar o efeito do aditivo microbiológico (*Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*), quitosana e o blend (aditivo microbiológico e quitosana) na composição química, digestibilidade *in vitro*, perfil fermentativo, perdas, estabilidade aeróbia e população microbiana de silagens de milho, milheto e sorgo.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. LOCALIZAÇÃO, PLANTIO E DESENHO EXPERIMENTAL**

O experimento foi conduzido na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) - *Campus* Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil (21°48'09"S, 41°17'28"W e 12m altitude) e no Laboratório de Zootecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) - Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil (21°45'41"S, 41°17'27"W) e 10m altitude. O clima da região Norte Fluminense é classificado como Aw, isto é, tropical úmido, com verão chuvoso, inverno seco (Köppen, 2013), com precipitação anual

de 1.020 mm (Fonte).

O plantio do milheto (*Pennisetum glaucum* L.) cv. BRS 1501, do sorgo (*Sorghum bicolor*) cv. BRS8010 e do milho (*Zea Mays*) cv. PR1150 foi realizado no *Campus* experimental da UFRRJ, localizado em Campos dos Goytacazes, RJ. A semeadura foi realizada em janeiro de 2019 de forma manual, em parcelas constituídas de cinco fileiras de 5 m de comprimento cada, com espaçamento entre fileiras de 0,70 m, sendo utilizadas 60; 13 e 6 sementes por metro linear para as culturas do milheto, sorgo e milho, respectivamente.. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com três culturas de interesse agrícola (milho, sorgo e milheto) e oito repetições cada, totalizando 24 unidades experimentais. No plantio, foram 200 kg ha<sup>-1</sup>, da fórmula 08-28-16 de NPK.

## 2.2.TIPO DE ADITIVOS E DESENHO EXPERIMENTAL

O milheto, foi colhido manualmente em cada parcela, após 60 dias do plantio, e o milho e o sorgo olhido manualmente em cada parcela, após 90 dias do plantio em seguida, picados em máquina forrageira estacionária (Modelo JF Maxxium, JF Máquinas Agrícolas LTDA, Brazil) com tamanho médio de partícula de de  $\pm 1.5$  cm.

Foram utilizados silos de Polyvinyl (PVC) com 150 mm de diâmetro  $\times$  50 cm de altura, contendo válvula de Bunsen para escape dos gases. Nos silos de PVC foram colocados aproximadamente 600 g de areia seca, separada por tecido de algodão para determinar as perdas por efluentes. Os silos foram cheios com densidade de 600 kg/m<sup>3</sup> (matéria natural ensilada) e em seguida, todos os silos foram armazenados em temperatura ambiente de  $25\pm 2.3$  °C, durante 90 dias.

Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados em um esquema fatorial  $3 \times 4$ , sendo três culturas (milheto, milho e sorgo) e quatro aditivos: Controle (sem aditivo), aditivo microbiológico (*Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* -  $2.5 \times 10^{10}$  ufc/g - Biomax milho, Lallemand, Saint-Simon, France [Micro]), quitosana (especificações técnicas: densidade aparente de 0,64 g / mL, 20,0 g / kg de cinzas, 7,0-9,0 de pH, viscosidade < 200 cPs e nível de desacetilação de 95% [Polymar Industria, Ceará, Brasil]) 1%/kg de material ensilado) e Blend (Quitosana [0,5%] mais aditivo microbiológico [2 g/t de forragem]), com cinco repetições por tratamento.

Os aditivos foram aplicados manualmente, antes da ensilagem. O inculante microbiano foi utilizado conforme as recomendações do fabricante (2 g/t de forragem), sendo diluído em água e pulverizado sobre o material.

### 2.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

As amostras da forragem antes da ensilagem e das silagens foram secas em estufa de ventilação forçada a  $\pm 55$  °C por 72 horas. Após a obtenção da amostra seca ao ar, as amostras foram moídas em moinho tipo Wilye, com peneira de 1mm de crivo. Foram analisados os teores matéria seca total (MS, Método AOAC 967.03, AOAC, 1990), gordura bruta (GB, Método AOAC 2003.06; Thiex et al., 2003), matéria mineral (MM, Método AOAC 942.05, AOAC, 1990), teor de proteína bruta ( $[N \times 6.25]$ PB, Método AOAC 984.13 e Método AOAC 2001.11; Thiex et al., 2002), fibra insolúvel em detergente neutro utilizando a amilase termoestável sem a exclusão das cinzas (FDNa, método INCT-CA F-001/1; Detmann et al., 2012), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) foi determinada de acordo com método INCT-CA F-003/1 descrita por Detmann et al. (2012) e lignina (MÖLLER, 2009). O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi estimado como:  $CNF(g/kg) = 1000 - PB - GB - Cinza - FDN$ .

A fração hemicelulose foi calculada pela diferença entre os teores de FDN e FDA, já a celulose pela diferença entre os teores de FDA e Lignina, expressos em g/kg DM.

### 2.4 CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS, DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* E ESTIMATIVA DAS ENERGIAS METABOLIZÁVEIS E LÍQUIDAS

Os procedimentos experimentais para os animais usados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais Experimentais da UENF, protocolo 419/2019.

Foram utilizados quatro ovinos canulados no rúmen, com massa corporal de  $45 \pm 3,2$  kg como doadores do fluido ruminal, que foram mantidos em baias coletivas com comedouro e bebedouro. Antes das coletas do fluido ruminal os ovinos foram adaptados por 14 dias a uma dieta com feno de tifton 85 e concentrado para atender as exigências de manutenção de energia. Após este período iniciou-se as coletas do fluido ruminal, sendo as coletas realizadas momentos antes da alimentação diurna, conforme Yáñez-Ruiz et al. (2016). O fluido ruminal (líquido e sólido) foi coletado em vários pontos da interface

líquido-sólido do ambiente ruminal para cada bateria de incubação. Foi utilizada a solução tampão de McDougall (1948) e 500 mg de amostra das silagens foram adicionados em vidros de penicilina âmbar, juntamente com 50 ml do inóculo previamente preparado (relação 1:4, fluido ruminal e solução tampão, respectivamente). O espaço livre nos vidros foi imediatamente saturado com CO<sub>2</sub>, sendo esses fechados e levados ao banho maria. Durante o período de incubação os vidros foram agitados com o objetivo de homogeneizar o conteúdo dos mesmos.

Os perfis de tempo da produção acumulada de gás foram obtidos conforme Abreu et al. (2014). As medições de pressão e volume foram realizadas nos tempos 0; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 16; 20; 24; 30; 36 e 48 horas após a adição do inóculo ruminal. A pressão e o volume cumulativo dos gases da fermentação foram obtidos somando-se as leituras corrigidas para o marco nos tempos subsequentes ao tempo zero.

Para estimar os perfis de produção cumulativa de gases foi utilizado o modelo de Groot et al. (1996):

$$G = A/(1 + (B^c / t^c)) \quad \text{Eq.1}$$

$$R_M (mLh^{-1}) = ((C \times t^{(C-1)}) / (B^C + t^C)) \quad \text{Eq.2}$$

Em que, o parâmetro  $G$  representa a quantidade de gás produzido por unidade de matéria seca (MS) incubada no tempo  $t$  após o período de incubação das amostras; o parâmetro  $A$  representa a produção de gás assintótica (mg/g MS); o parâmetro  $B$  é o tempo (h) após a incubação em que a metade do gás assintótico foi formado,  $t$  representa a velocidade da produção de gás; o parâmetro  $C$  é uma constante que determina a nitidez da característica da alteração da curva.  $R_M$  representa a taxa máxima de produção de gás quando a população microbiana não limita o processo fermentativo e a digestão não é reduzida por barreiras químicas ou estruturais do material potencialmente digestível.

A determinação da digestibilidade *in vitro* centrou – se sobre uma etapa de digestão em líquido ruminal, omitindo-se a etapa com utilização de pepsina preconizada por Tilley & Terry (1963). A solução tampão foi a mesma citada anteriormente. Para cada amostra testada, três amostras de aproximadamente 200 mg, secas ao ar, foram pesadas e acondicionadas em frascos de penicilina âmbar de 100 mL, juntamente com 20 mL da solução tampão mais o inóculo; o espaço livre nos frascos foi imediatamente saturado com CO<sub>2</sub>, sendo esses fechados e levados ao banho maria previamente aquecido a 39°C.

Após 48 horas de incubação, os frascos foram retirados do banho maria e imediatamente lavados com água quente destilada (temperatura superior a 90°C) e o

material incubado foi filtrado em papel filtro quantitativo (55 l/s m<sup>2</sup> de permeabilidade ao ar). Após a lavagem, estes materiais foram secos (55°C/24 horas seguido de 105°C/16 horas) e pesados, obtendo-se o resíduo aparentemente não digerido da matéria seca (MS). Para a avaliação da digestibilidade *in vitro* da FDN, usou-se metodologia descrita por Detmann et al. (2012). A fração potencialmente digestível foi determinado pela subtração da FDN pelo FDNi.

A digestibilidade (D) da MS e da FDN foram calculadas conforme a equação:  $D = (M - [R - B]/M) \times 1000$  Eq.3

Em que: M = massa de MS ou de FDN incubada (g); R = resíduo de MS ou de FDN da incubação (g); B = resíduo de MS ou de FDN obtido nos “brancos” (g).

A energia metabolizável (EM) e a energia líquida (EL) foram estimadas utilizando as seguintes equações propostas por Menke & Steingass (1987):

$$EM, MJ/kgMS = 0.157 \times GP + 0.0084 \times PB + 0.022 \times GB - 0.0081 \times cinzas + 1.06 \quad \text{Eq.4}$$

$$EL, MJ/kgMS = 0.115 \times GP + 0.0054 \times PB + 0.014 \times GB - 0.0054 \times cinzas + 0.36 \quad \text{Eq.5}$$

Em que: GP é a produção líquida de gás no tempo 24 horas (mL/200 mg DM).

## 2.5 PERDAS POR GASES E POR EFLUENTES E RECUPERAÇÃO DE MATÉRIA SECA

As perdas foram calculadas conforme as equações propostas por Jobim et al. (2007):

As perdas de gás foram calculadas utilizando a equação 3:

$$GL = (MSA - MSP)/(MFE \times MSE) \times 100 \quad \text{Eq.3}$$

Em que: G = perdas de gás (% matéria seca); MSA = massa do silo antes da ensilagem (kg); MSP = massa do silo após a abertura dos silos (kg); MFE = Massa de forragem na ensilagem (kg); e MSE = matéria seca ensilada (% matéria seca).

As perdas por efluentes foram calculadas de acordo com a equação 4:

$$EF = \{[(MSVa - MSV) - (MSVaa - MSV)]/MFE\} \quad \text{Eq.4}$$

Em que: EF = perdas de efluentes (kg / t de matéria fresca); MSVa = massa do silo vazio + massa de areia no fechamento (kg); MSV = massa do silo vazio (kg); MSVaa = massa do silo vazio + massa de areia após a abertura (kg); e MFE massa de forragem na ensilagem (kg).

A recuperação da matéria seca foi calculada por meio da equação 5:

$$RMS = (MFA \times MSA) / (MFE \times MSE) \times 100 \quad \text{Eq.5}$$

Em que: RMS = recuperação de matéria seca (% MS); MFA= massa de forragem na abertura (kg); MSA = teor de matéria seca na abertura (%); MFE = Massa de forragem na ensilagem (kg); e MSE = matéria seca ensilada (% matéria seca).

## 2.6 PERFIL FERMENTATIVO

No momento da abertura de cada silo o material foi homogeneizado e deste foi retirado uma amostra de 25 g de silagem fresca. Em seguida, esta amostra foi processada com 225 ml de solução salina (8.5 g de NaCl/L de água destilada) durante 1 minuto, em liquidificador. O material foi filtrado e foram colhidas três alíquotas, sendo duas para determinação do perfil fermentativo e uma para a quantificação da população microbiana. Na primeira alíquota, foi aferido o pH e adicionado 0,036N de ácido sulfúrico para determinação do teor de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), por meio de destilação com óxido de magnésio conforme descrito por Fenner (1965). A segunda alíquota foi utilizada para quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) de acordo com a metodologia de Andrade et al. (2021). Nessa alíquota foram adicionados 0,5 mL de solução de ácido sulfúrico (50%), conforme Kung Jr. (1996) e armazenadas a -18°C até a análise. As concentrações de AGCC foram determinadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC; YL9100 HPLC System [Young Lin]), equipado com uma coluna Rezex RCM–Monosaccharide Ca<sup>+2</sup> (8%). Foi utilizada água ultra-pura como fase móvel com um fluxo de 0,7 mL/min, a temperatura da coluna foi mantida a 60°C e utilizou-se um detector de Índice de refração. Previamente foi realizada uma curva de calibração com intervalo de linearidade dos compostos analisados entre 0,5 a 1 g/L para os ácidos butírico e acético e de 1 a 2 g/L para o ácido propiônico.

## 2.7 POPULAÇÃO MICROBIANA

A terceira alíquota do extrato aquoso da silagem foi filtrada e 9 ml foram adicionados em tubo falcon estéril e submetidos a diluições em série (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-6</sup>). Para a contagem de enterobactérias foi utilizado o meio de cultura VRB (Violet Red Bile) com tempo de incubação de 24 h, à 37 °C. Para a contagem dos fungos foi utilizado o meio de cultura PDA (Potato Dextrose Àgar) com tempo de incubação de quatro dias à 25 °C e para as bactérias de ácido láctico foi utilizado o MRS (De Man, Rogosa, Sharpe), com tempo de

incubação de 48 h à 37 °C. As contagens microbianas foram expressas como unidade formadoras de colônias por grama (UFC/g). Assim, a contagem microbiana foi transformada para  $\log_{10}$  para obtenção de distribuição Lognormal.

## 2.8 ESTABILIDADE AERÓBIA

Após a abertura dos silos, 2.0 kg de silagem foram acondicionados em sacos plásticos de 5.0 kg capacidade, durante sete dias, para avaliação da estabilidade aeróbia. Essas amostras foram mantidas em temperatura ambiente, cuja temperatura foi monitorada a cada 6h, com data loggers (Log 110 EXF Inconterm; Brazil) inseridos a 10 cm de profundidade no centro da massa ensilada. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo, em horas, em que a temperatura da silagem excede em 2 °C a temperatura ambiente, após exposta ao ar (Kung Jr. et al., 2000).

## 2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes à composição química, perdas, populações microbianas, perfil fermentativo, digestibilidade *in vitro* e teores de energia metabolizável e líquida foram analisados em blocos casualizados em esquema fatorial  $3 \times 4$ , com quatro repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 0.05, utilizando o pacote MIXED do SAS (version SAS University Edition, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + b_k + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijk}$  é o valor observado para a variável em estudo referente a  $k$ -ésima repetição da combinação do  $i$ -ésimo nível do fator  $\alpha$  com o  $j$ -ésimo nível do fator  $\beta$ ;  $\mu$  é média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;  $\alpha_i$  é a adição de aditivos nas silagens com  $i = 1,2,3,4$ ;  $\beta_j$  é o efeito das culturas com  $j = 1,2,3$ ;  $\alpha\beta_{ij}$  é a interação entre a adição de aditivos e as diferentes culturas;  $b_k$  é o efeito do  $k$ -ésimo bloco na observação;  $e_{ijk}$  é o erro associado a observação  $Y_{ijk}$ .

Os dados da estabilidade aeróbia e o pH foram analisados como medida repetida no tempo, por meio de análise regressão com nível de significância de 0.05, utilizando o pacote MIXED do SAS (version SAS University Edition, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\tau_{ik} + \beta\tau_{jk} + \alpha\beta\tau_{ijk} + b_l + e_{ijkl}$$

Em que:  $Y_{ijkl}$  é o valor observado para a variável em estudo referente a  $l$ -ésima repetição da combinação do  $i$ -ésimo nível do fator  $\alpha$  com o  $j$ -ésimo nível do fator  $\beta$  na  $k$ -ésima hora;  $\mu$  é média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;  $\alpha_i$  é a adição de aditivos nas silagens com  $i = 1,2,3,4$ ;  $\beta_j$  é o efeito das culturas com  $j = 1,2,3$ ;  $\tau_k$  é o efeito aleatório das horas de avaliação com  $k = 0,24,\dots,144$  para pH e  $0,8,16,\dots,162$  para temperatura;  $\alpha\beta_{ij}$  é a interação entre a adição de aditivos e as diferentes culturas;  $\alpha\tau_{ik}$  é a interação entre adição de aditivos e as horas de avaliação;  $\beta\tau_{jk}$  é a interação entre as culturas e as horas de avaliação;  $\alpha\beta\tau_{ijk}$  é a interação entre adição aditivos, culturas e as horas de avaliação;  $b_k$  é o efeito do  $l$ -ésimo bloco na observação;  $e_{ijkl}$  é o erro associado a observação  $Y_{ijkl}$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1.COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE IN VITRO E ESTIMATIVAS DE ENERGIA METABOLIZÁVEL E LÍQUIDA

Não houve efeito de interação ( $P>0.05$ ) aditivos x cultura (Tabela 1). No entanto, observou-se efeito de aditivo sobre os teores de PB, LIG e CEL e de Cultura sobre todas as características avaliadas. Foi observado maior teor de PB, nas silagens tratadas com quitosana (Tabela 1).

A silagem de milho apresentou maiores teores de MS ( $P<0.001$ ), GB ( $P<0.001$ ), CNF ( $P<0.001$ ), HEM ( $P=0.003$ ) e CEL ( $P<0.001$ ), menores teores FDN ( $P<0.001$ ), FDA ( $P<0.001$ ), LIG ( $P=0.0029$ ) e cinzas ( $P<0.001$ ) em relação as silagens de milho e sorgo (Tabela 1).

Foi observado efeito da interação ( $P<0.05$ ) aditivo x cultura sobre a produção de gás e energia metabolizável e de cultura ( $P<0.05$ ) sobre a digestibilidade in vitro da MS e FDN, bem como de aditivo, sobre a digestibilidade in vitro da MS (Tabela 2). A utilização da quitosana reduziu nas silagens as concentrações de energia metabolizável ( $P=0.0002$ ) e líquida ( $P<0.0001$ ) e a produção de gás em 24 horas ( $P<0.0001$ ) (Tabela 2). Também as silagens de milho e sorgo apresentaram maior produção gás em 24 horas em relação a silagem de milho (Tabela 2). A utilização de aditivos ( $P=0.0418$ ) melhorou a DIVMS, sendo que a quitosana e o aditivo microbiológico proporcionaram aumento na

DIVMS das silagens de milho e sorgo, já a silagem de milho a utilização ou não da quitosana e do Blend não melhorou este parâmetro. A DIVFDN não foi afetada pela utilização de aditivos ( $P = 0.1194$ ) e nem pela cultura ensilada ( $P = 0.0223$ ) (Tabela 2).

### 3.2. PERFIL FERMENTATIVO

Não houve efeito da interação ( $P > 0.05$ ) aditivos x culturas (Tabela 3) sobre o perfil fermentativo das silagens. No entanto, observou-se efeito de aditivo e de cultura sobre o pH, e de aditivo sobre os teores de ácido butírico e de cultura sobre o ácido propiônico (Tabela 3).

Foi observado maior conteúdo de ácido propiônico na silagem de milho ( $P = 0.0192$ ). Porém, a utilização de quitosana aumentou ( $P = 0.0329$ ) a concentração de ácido butírico nas silagens (Tabela 3).

### 3.3. PERDAS E RECUPERAÇÃO DE MATÉRIA SECA

Não houve efeito da interação ( $P > 0.05$ ) aditivos x tipo de cultura sobre a recuperação de MS (Tabela 4). Os aditivos não afetaram as perdas por gases ( $P = 0.3984$ ) e efluentes ( $P = 0.6891$ ), tampouco a recuperação de MS ( $P = 0.3019$ ) (Tabela 4). Entretanto, a silagem de milho apresentou maior recuperação de MS ( $P = 0.0002$ ) em comparação às demais (Tabela 4).

### 3.4. POPULAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Não houve efeito de interação ( $P > 0.05$ ) entre aditivos e tipo de cultura (Tabela 5). Não foi detectada presença de enterobactérias nas contagens bacterianas. A utilização de aditivos não afetou as populações de bactérias do ácido láctico ( $P = 0.9481$ ) e fungos ( $P = 0.0719$ ). Entretanto as silagens aditivadas com quitosana apresentaram menores quantidades de fungos em relação aos demais aditivos. A quantidade de mofo presente no material ensilado não foi afetada pela utilização de aditivos ( $P = 0.804$ ), entretanto a cultura do milho não apresentou mofo na silagem (Tabela 5).

### 3.5. ESTABILIDADE AERÓBIA

Não houve efeito da interação ( $P > 0.05$ ) aditivos x tipo de cultura sobre a estabilidade aeróbia (Figura 1). No entanto, observou-se efeito de aditivo a estabilidade aeróbia da silages de milho ( $P = < 0.0001$ ), sorgo ( $P = 0.0019$ ) e milho ( $P = 0.0002$ ) ao longo do período de avaliação ( $P < 0.05$ ) (Figura 1).

A temperatura das silagens de milho, milho e sorgo, sem a utilização de aditivos, apresentou um aumento de 2 °C, 31,5 horas após abertura dos silos (Figura 1). Entretanto, ao avaliarmos a utilização de aditivos, observamos que nas silagens de milho e milho, com quitosana, a média da temperatura das silagens se manteve estável por maior tempo, pois a mudança em 2 °C na temperatura foi a partir de 49,5 horas para o milho e 42 horas para a silagem de milho (Figura 1a e 1b). Já a silagem de sorgo com a quitosana apresentou uma mudança de temperatura muito rápida, cerca de 22,5 horas (Figura 1c).

#### 4. DISCUSSÃO

O menor teor de MS observado nas silagens de milho e sorgo é justificado pela maior resistência à seca dessas culturas, devido um processo adaptativo que previne a desidratação excessiva, como: presença de estômatos menores, fechamento precoce dos estômatos, baixa densidade estomática e aumento da serosidade das folhas, retendo maior quantidade de água na planta (LEVITT, 1980). Além disso, o teor de matéria seca é dependente do estágio de desenvolvimento da cultura. O teor de matéria seca adequado é importante para o processo de ensilagem, devido: 1) vantagens agronômicas, como aumento da produção de MS e porcentagem de grãos, 2) benefícios para o processo de ensilagem, uma vez que menor quantidade de água é transportada do campo para o silo e a perda de MS através da produção de efluentes é reduzida, 3) benefícios ao processo de fermentação, considerando que o crescimento de indesejáveis microrganismos (por exemplo, *Clostridia* e *Bacilli*) são evitados ou pelo menos prejudicados por aumento do teor de MS da forragem e 4) vantagens nutricionais, como amido superior acumulado no grão (OLIVEIRA et al., 2017).

A maior concentração de PB nas silagens com quitosana, se justifica devido a a presença de quitina, que compõe o exoesqueleto de crustáceos e insetos conforme Heu et al. (2003). O baixo valor de N-NH<sub>3</sub> encontrado nas silagens do presente estudo indica baixa degradação dos compostos proteicos, devido a proteólise.

Os valores de pH relativamente baixos podem ter auxiliado na prevenção do desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*, que estão entre os principais microrganismos deterioradores das silagens (Tabela 3). Os menores teores de LIG, FDN e CEL na silagem de milho (Tabela 1), provavelmente se deve à translocação de carbono da folha para a formação e enchimento dos grãos, fazendo com que ocorra aumento nos teores de amido na planta (DI FONZO et al., 1982). Tal hipótese é confirmada pelo maior

teor de CNF na silagem de milho em relação as demais. Entretanto, a redução da LIG nas silagens de milho e sorgo com o aditivo microbiológico não está claro. A silagem de milho também apresentou maior ( $P = 0.0003$ ) teor de HEM em relação as silagens de milho e sorgo, para Melvin (1965) e Yahaya et al. (2001) os produtos da degradação da hemicelulose (xilose) e do amido (glicose) podem servir como substratos para os microrganismos produzirem ácidos durante o processo de ensilagem (Tabela 2), este fato pode ser comprovado no presente estudo pelo aumento, principalmente, de ácido propiônico produzido pela *Propionibacterium acidipropionici*, este efeito também foi observado no trabalho de Carrondo et al., (1988) (Tabela 3).

A silagem de milho apresentou menor ( $P < 0.0001$ ) teor de cinzas em relação as demais (Tabela 2). Para Ashbell (1995), o menor teor de cinzas é indicativo de melhor conservação da forragem, pois, a ocorrência de uma fermentação inadequada resulta em perdas de matéria orgânica, aumentando a participação relativa da cinzas na MS.

A redução na digestibilidade *in vitro* da MS da silagem de milho com quitosana), provavelmente é devido a atividade antibacteriana mais intensa desse aditivo sobre as bactérias Gram-positivas do que nas bactérias Gram-negativas (LI & ZHUANG, 2020). Segundo Ma et al. (2017) a natureza policatiônica da quitosana, devido às cargas positivas dos grupos amino protonados ( $\text{NH}_3^+$ ), permite que ela interaja com a membrana externa carregada negativamente de inúmeros microrganismos, causando extensas alterações na superfície celular, levando ao vazamento de substâncias intracelulares, resultando em morte celular. Por outro lado, a maior digestibilidade *in vitro* da FDN na silagem de milho pode está relacionado ao maior de teor de HEM desta em relação as demais silagens, pois a hemicelulose é o constituinte do FDN com maior potencial de digestão (Van Soest et al.,1991, Harper e McNeill, 2015) . A redução na energia das silagens com quitosana é reflexo do menor volume de gás produzido em 24 horas nessas silagens, devido a atividade antimicrobiana da quitosana (LI & ZHUANG, 2020).

A deterioração aeróbia da silagem é caracterizada pela ação de microrganismos aeróbios (leveduras, fungos filamentosos e bactérias aeróbias), os quais consomem os ácidos produzidos durante o processo de conservação (ácido lático) e os componentes solúveis da silagem, produzindo gás carbônico, água e calor (MUCK, 2010; BORREANI et al., 2018). Neste estudo as temperaturas variaram entre 22.3 e 24.9°C, entretanto, a silagem de milho apresentou ( $P = 0.0001$ ) maior temperatura em relação as demais (Tabela 3), isso provavelmente está relacionado com a maior contagem de fungos na silagem (Tabela 5).

O aditivo microbiológico foi mais eficiente na redução do pH das silagens, cujos valores são indicativos de silagens de boa qualidade, segundo critérios de MCDONALD et al. (1991).

Embora não tenha sido detectado efeito dos fatores estudados sobre as concentrações de ácidos de cadeia aditivo microbiológico proporcionou aumento de 26.34% no teor de ácido acético em comparação com as silagens sem aditivos. A silagem de milho apresentou maior concentração de ácido propiônico, devido maior quantidade de NFC disponível (Tabela 1). Por outro lado, o maior conteúdo de ácido butírico, nas silagens com quitosana pode retardar a queda do pH da massa ensilada, causando maior extensão do processo fermentativo (McDonald et al., 1991; Muck, 2010), conforme verificado no presente estudo. Alguns fatores podem influenciar na estabilidade aeróbia na silagem, como o teor de MS, concentração de ácidos graxos de cadeia curta e contagem de leveduras e bolores (MUCK, 2010; XIE et al., 2020). A deterioração aeróbia ocorre quando os produtos de fermentação do silo (isto é, ácidos láctico, acético, propiônico e butírico) se tornam substrato para o crescimento microbiano, devido a oxidação de ácidos e carboidratos solúveis em água em CO<sub>2</sub> e água pelos microrganismos, resultando em um aumento da temperatura da silagem em 2°C acima da temperatura ambiente (PAHLOW et al., 2003; GANDRA et al., 2016). Assim, ao analisarmos o presente estudo observamos que a temperatura das silagens foi afetada pelos aditivos ao longo das 168 horas ( $P < 0.05$ ) (Figuras 1a, b e c). Neste estudo observamos que as silagens com quitosana apresentaram maior estabilidade aeróbia, sendo que na silagem de milho a mudança na temperatura foi a partir de 49.5 horas, na silagem de milho 42 horas e na silagem de sorgo 22.5 horas após a abertura dos silos (Figuras 1a, b e c, respectivamente). Além disso, a quitosana e o aditivo microbiológico mantiveram as temperaturas estáveis ao longo das horas de avaliação (Figura 1). Segundo Danner et al. (2003); Basso et al. (2012) a quitosana pode inibir as leveduras e bolores na exposição ao ar após a abertura da silagem, devido a atividade antibacteriana (Li & Zhuang, 2020), o que explica as silagens terem aumentado a estabilidade aeróbia, fato que também foi observado no presente estudo (Tabela 5).

Durante os processos de ensilagem da forragem poderão ocorrer perdas por efluentes e gases, principalmente quando se utiliza de materiais com altos teores de umidade (Silva et al., 2017). Para Borreani et al. (2017) a produção de silagem de alta qualidade e a redução das perdas é um desafio, apesar de algumas dessas perdas serem inevitáveis. No nosso estudo, os aditivos não afetaram as perdas por gases ( $P > 0.05$ ) e efluentes ( $P > 0.05$ ).

A recuperação de matéria seca (RMS) foi afetada pela cultura ( $P = 0.0002$ ), sendo que a silagem de milho foi 26% mais eficiente na RMS em relação a silagem de milheto e 15.55% em relação a silagem de sorgo (Tabela 4). A maior recuperação de matéria seca na silagem de milho, em comparação às demais, parece não ter uma explicação, uma vez que as perdas por gases e efluentes foram semelhantes entre as silagens.

O conhecimento da microflora pode auxiliar na compreensão das interações que possam ocorrer dentro e fora do silo, sendo mais um parâmetro para avaliação da qualidade de silagens (MUCK, 2010; CHELI et al., 2013). Para Richard e Muck (2010) a ensilagem geralmente controla a atividade microbiana pela combinação de um ambiente anaeróbio com a fermentação natural dos açúcares por bactérias do ácido lático presentes na cultura. Assim, ao analisarmos a população microbiana neste estudo, não observamos diferença entre os aditivos ( $P > 0.05$ ) e entre as culturas ( $P > 0.05$ ) (Tabela 5). Embora neste estudo não tenha ocorrido efeito dos aditivos ( $P = 0.9481$ ), tão pouco do tipo de cultura ( $P = 0.1934$ ), a utilização do aditivo microbiológico aumentou a população de BAL's nas silagens. No nosso estudo, a população microbiana avaliada não foi afetada por nenhum dos fatores estudados. No caso das BAL, todas as silagens apresentaram populações superiores a  $10^5$  ufc/g, que seria suficiente para assegurar uma boa fermentação do material ensilado (Fonte). É reconhecido que esse grupo bacteriano apresentam papel fundamental no processo de ensilagem, pois além de inibir o crescimento de microrganismos deterioradores, possibilitam uma maior recuperação da energia dos carboidratos fermentados por meio da produção de ácido lático (MUCK, 2010; BORREANI et al., 2018).

## 5. CONCLUSÕES

Embora a quitosana tenha proporcionado melhorias na composição química das silagens, os aditivos avaliados, em geral, não proporcionaram melhorias no perfil fermentativo das silagens. Entretanto, o aditivo microbiológico melhorou a digestibilidade *in vitro* da MS e aumentou a concentração energética das silagens de milho e sorgo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORREANI, G.; TABACCO, E.; SCHMIDT, R.J.; HOLMES, B.J.; MUCK, R.E. 2018. ABREU, M.L.C., VIEIRA, R. A. M., ROCHA, N. S., ARAÚJO, R. P., GLÓRIA, L. S., FERNANDES, A. M., LACERDA, P.D., & GESUALDI, A., Jr. (2014). *Clitoria ternatea* L. as a potential high quality forage legume. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(2), 169-178.
- ANDRADE, C. M., COGO, A. J. D., PEREZ, V. H., SANTOS, N. F., OKOROKOVA-FAÇANHA, A. L., JUSTO, O. R., FAÇANHA, A. R. (2021). Increases of bioethanol productivity by *Saccharomyces cerevisiae* in unconventional bioreactor under ELF-magnetic field: New advances in the biophysical mechanism elucidation on yeasts. *Renewable Energy*, 169: 836-842.
- ASHBELL, G. Basic principles of preservation of forage, by-products and residues as silage or hay. Bet Dagan, Israel: **Agricultural Research Organization**, 1995. 58p.
- Association of Official Analytical Chemistry (2019). Official methods of analysis (21nd ed.). Gaithersburg, Maryland: AOAC.
- BASSO, L.C.; BASSO, T.O.; ROCHA, S.N. Ethanol production in Brazil: the industrial process and its impact on yeast fermentation. In: SANTOS BERNARDES, M.A. (Ed.). Biofuel production: recent developments and prospects. Croatia: INTECH, p. 85- 100, 2011.
- BORREANI, G., TABACCO, E., SCHMIDT, R.J., HOLMES, B.J., MUCK, R.E. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**. v. 101, p.3952–3979. 2018.
- CARRONDO, M.J.T.; CRESPO, J.P.S.G.; MOURA, M.J. 1988. Production of propionic acid using a xylose utilizing *Propionibacterium*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 17, 295-312.
- CHELI, F.; CAMPAGNOLI, A.; DELL'ORTO, V. 2013. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. **Animal Feed Science and Technology**, 183, 1-16.
- DEL VALLE, T. A. et al. Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for midlactation dairy cows. *Livestock Science*, v. 201, p. 22–29, 2017.
- DETMANN, E., SOUZA, M. A., VALADARES, S. C., Fº., QUEIROZ, A. C., BERCHIELLI, T. T., SALIBA, E. O. E., CABRAL, L. S., PINA, D. S., LADEIRA, M. M., & AZEVEDO, J. A. G. (2012). *Métodos para análise de alimentos (INCT - Ciência animal)*. Universidade Federal de Viçosa.

- DI FONZO, N., MOTTO, M., MAGGIORE, T., SABATINO, R., SALAMINI, F. N-uptake, translocation and relationships among N-related traits in maize as affected by genotype. **Agronomie, EDP Sciences, 1982, 2 (9), pp.789-796.**
- FENNER, H. (1965). Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. *Journal of Dairy Science*, 48, 251-251, 249-251.
- GANDRA, J. R., TAKIYA, C. S., DEL VALLE, T. A., OLIVEIRA, E. R., GOES, R. H. T. B., GANDRA, E. R. S., BATISTA, J. D. O., & ARAKI, H. M. C. (2018). Soybean wholeplant ensiled with chitosan and lactic acid bacteria: Microorganism counts, fermentative profile, and total losses. *Journal of dairy science*, 101(9), 7871-7880.
- GANDRA, J.R.; OLIVEIRA, E.R.; TAKIYA, C.S.; GOES, R.H.T.B.; PAIVA, P.G.; OLIVEIRA, K.M.P.; GANDRA, E.R.S.; ORBACH, N.D.; HARAHI, H.M.C. 2016. Chitosan improves the chemical composition, microbiological quality, and aerobic stability of sugarcane silage. **Animal Feed Science and Technology**, 214, 44-52.
- GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. 2010. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. **Journal of Animal Science**, 88, 749-755.
- HARPER, K.J.; MCNEILL, D.M. 2015. The Role of iNDF in the Regulation of Feed Intake and the Importance of Its Assessment in Subtropical Ruminant Systems (the role of iNDF in the Regulation of Forage Intake). **Agriculture**, 5, 778-790.
- HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G.; MÉNDEZ-MONTEALVO, M.G.; SÁNCHEZ-RIVERA, M.M.; BELLOPÉREZ, L.A. Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in vitro development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. *Carbohydrate Polymers*. v.73(4), p.541-547, 2008.
- HEU, M.S., KIM, J.S., SHAHIDI, F. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. **Food Chemistry**, v.82, n.2, p.235-242, 2003.
- JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A.; SCHMIDT, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36:101-119.
- KUNG JR., L. Preparation of silage water extracts for chemical analyses. Standard operating procedure – 001 2.03.96. ed. Delaware: University of Delaware – Ruminant Nutrition Lab., 1996. 32p.
- LEVITT J. 1980. Response of plants to environmental stress. II: Water radiation, salt and other stress. Academic Press, 606p.
- LI, J; ZHUANG, S. 2020. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. **European Polymer Journal**. 138, 10998.

- LOURES, D. R. S. et al. Características do efluente e composição químico-bromatológica da silagem de capimelefante sob diferentes níveis de compactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, p. 1851-1858, 2003.
- MA, Z.; GARRIDO-MAESTU, A.; JEONG, K.C. 2017. Application, mode of action, and in vivo activity of chitosan and its micro-and nanoparticles as antimicrobial agents: A review. *Carbohydr. Polym.* 176, 257–265.
- MCDONALD, P., HENDERSON, A. R., & HERON, S. J. E. (1991). *The biochemistry of silage* (2nd ed.). **Chalcomb Publications.**
- MCDUGALL, E. I. (1948). The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, 43(1), 99-109.
- MELVIN, J.F. 1965. Variations in the carbohydrate content of lucerne and the effect on ensilage. *Austr. J. Agric. Res.*, 16:951-959
- MÖLLER, J. Gravimetric determination of acid detergent fiber and lignin in feed: interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, v. 92, p. 74-90, 2009.
- MUCK, R. E. Microbiologia silagem e seu controle por meio de aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 183- 191, (supl. especial) 2010.
- OLIVEIRA, I.L.; LIMA, L.M.; CASAGRANDE, D.R.; LARA, M.A.S.; BERNARDES, T.F. 2017. Nutritive value of corn silage from intensive dairy farms in Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 494-501.
- PAHLOW, G., MUCK, R.E., DRIEHUIS, F., OUDE ELFERINK, S.J.W.H., SPOELSTRA, S.F. 2003. Microbiology of ensiling. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*. **American Society of Agronomy**, Madison, WI.
- QUEIROZ, O.C.M. Aditivos bacterianos para silajes. *Sitio Argentino de Producción Animal*. p. 1-6, 2014.
- REZENDE, A. V.; GASTALDELLO JUNIOR, A. L.; VALERIANO, A. R.; CASALI, A. O.; MEDEIROS, L. T.; RODRIGUES, R. Uso de diferentes aditivos em silagem de capim-elefante. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 1, p. 281-287, 2008.
- RICHARD, E. MUCK. Silage microbiology and its control through additives. *R. Bras. Zootec.*, v.39, p.183-191, 2010 (supl. especial).
- ROLLER, S. & COVILL, N. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*. V.47 p.67-77,1999.
- SENEL, S., MCCLURE, S.J. 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 56, 1467–1480.
- SILVA, J.B.; REIS, S.T.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; SALES, E.C.J.; MOTA, V.J.G.; JAYME, D.G.; SOUZA, V.M. Características fermentativas da silagem do capim Marandu

- manejado em diferentes alturas de dossel. *Revista Brasileira de Saúde Produção Animal*, v. 12, n. 2, p. 329-339, 2011.
- SILVA, L.C.B. A qualidade das silagens de milho (*Zea mays* L.) e azevém Italiano (*Lolium multiflorum* Lam.) e a sua influência na composição do leite: Um caso de estudo. Lisboa: UL, 2017. 71 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica) – Universidade de Lisboa, Lisboa/Portugal, 2017.
- THIEX, N. J.; ANDERSON, S.; GILDEMEISTER, B. Crude fat, hexanes extraction, in feed, cereal grain, and forage (Randall/Soxtec/Submersion Method): Collaborative study. *Journal of AOAC International*, v. 86, p. 899-908, 2003.
- THIEX, N. J.; MANSON, H.; ANDERSON, S.; PERSSON, J.-Á. Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, v. 85, p. 309-317, 2002.
- TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, v. 18, p. 104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. ***Journal of Dairy Science***, 74, 3583-3597.
- XIE, Y.; XU, S.; LI, W.; WANG, M.; WU, Z.; BAO, J.; JIA, T.; YU, Z. 2020. Effects of the Application of *Lactobacillus plantarum* Inoculant and Potassium Sorbate on the Fermentation Quality, In Vitro Digestibility and Aerobic Stability of Total Mixed Ration Silage Based on Alfalfa Silage. ***Animals***, 10, 2229-2242.
- YAHAYA, M.S.; KIMURA, A.; HARAI, J.; NGUYEN, H.V.; KAWAI, M.; TAKAHASHI, J.; MATSUOKA, S. Effect of length of ensiling on silo degradation and digestibility of structural carbohydrates of lucerne and orchardgrass. ***Animal Feed Science and Technology***, v.92, p.141-148,2001.
- YÁÑEZ-RUIZ, D.R., BANNINK, A., DIJKSTRA, J., KEBREAB, E., MORGAVI, D. P., O'KIELY, P., REYNOLDS, C. K., SCHWARM, A. H., SHINGFIELD, K. J., YU, Z., & HRISTOV, A.N. (2016). Design, implementation and interpretation of in vitro batch culture experiments to assess enteric methane mitigation in ruminants a review. ***Animal Feed Science and Technology***, 216, 1-18.
- ZOPOLLATTO, M., DANIEL, J. L. P., & NUSSIO, L. G. (2009). Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. ***Revista Brasileira de Zootecnia***, 38, 170-189.

## TABELAS

Tabela 1- Efeitos dos aditivos na composição química da silagem de milho, milho e sorgo.

Variáveis	Milheto	Milho	Sorgo	SEM	<i>P-valor</i>		
					Aditivos	Culturas	Interação
MS					0.1693	<.0001	0.4826
S/aditivo	222.75B	335.80A	213.12B	15.12			
Micro	207.98B	328.60A	210.70B	15.30			
Quitosana	198.43B	330.28A	226.0B	15.17			
Blend	163.13B	317.37A	214.45B	16.50			
PB					0.0011	<.0001	0.0713
S/aditivo	44.70Bb	40.15Bb	54.07Ab	1.67			
Micro	37.95Bb	42.35Bb	64.15Ab	3.08			
Quitosana	53.62Ba	47.95Ba	70.95Aa	2.68			
Blend	49.90Bb	43.45Bb	55.25Ab	1.96			
GB					0.2138	<.0001	0.5479
S/aditivo	14.35C	24.37A	14.70B	2.40			
Micro	11.50C	23.35A	18.375B	1.58			
Quitosana	11.55C	20.42A	14.075B	1.07			
Blend	12.45C	22.17A	15.25B	1.15			
Cinzas					0.8391	<.0001	0.0504
S/aditivo	9.47A	4.80B	8.87A	0.56			
Micro	9.15A	3.72B	9.55A	0.72			
Quitosana	9.40A	5.40B	8.62A	0.50			
Blend	9.30A	5.52B	7.95A	0.51			
FDN					0.3245	<.0001	0.1130
S/aditivo	720.05A	605.72B	708.42A	14.18			
Micro	733.77A	632.07B	679.50A	12.43			
Quitosana	711.08 A	593.95B	678.33A	13.05			
Blend	725.62A	545.10B	724.45A	23.08			
FDA					0.631	<.0001	0.6891
S/aditivo	438.88A	295.63B	422.08A	17.31			
Micro	444.35A	270.50B	401.23A	19.54			
Quitosana	419.33A	293.57B	408.03A	15.41			
Blend	439.53A	278.23B	416.72A	20.81			
CNF					0.1692	<.0001	0.1170
S/aditivo	334.98C	463.65A	369.20B	14.98			
Micro	324.82C	438.18A	412.60B	14.88			
Quitosana	363.53C	479.80A	415.35B	13.00			
Blend	345.97C	526.12A	353.95B	22.60			
LIG					<.0001	0.0029	0.2020
S/aditivo	28.10Aab	15.05Bab	25.20Ab	1.49			
Micro	26.27Ab	12.22Bc	22.57Ac	1.76			
Quitosana	25.25Ab	15.55Ba	25.60Ab	1.26			
Blend	27.45Aa	14.32Bab	35.50Aa	2.31			

Hemic					0.478	0.0003	0.6431
S/aditivo	281.18B	340.30A	286.35B	9.44			
Micro	289.40B	378.03A	278.25B	12.08			
Quitosana	291.70B	321.30A	270.30B	6.73			
Blend	286.07B	323.93A	307.75B	9.80			
Cel					<.0001	0.8071	0.6855
S/aditivo	410.75A	280.53B	396.93A	15.82			
Micro	418.08A	258.28B	378.68A	17.98			
Quitosana	394.10A	278.0B	384.45A	14.27			
Blend	412.08A	263.88B	364.53A	21.28			

S/aditivo = Sem aditivo; Micro = aditivo microbiano; Blend = Quitosana mais aditivo microbiano; Culturas = silagens de milheto, milho e sorgo; SEM = Erro padrão da média. MS = Matéria seca; PB = proteína bruta; GB = Gordura bruta; FDN = fibra detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; CNF = carboidrato não fibroso; LIG = Lignina; Hemi = Hemicelulose; e Cel = Celulose, todos expressos em g/kg, exceto MS expresso como alimento.

Tabela 2 - Efeitos dos aditivos na digestibilidade in vitro e energia da silagem de milho, milho e sorgo.

Variáveis	Milheto	Milho	Sorgo	SEM	<i>P-valor</i>		
					Aditivos	Culturas	Interação
GP 24, mg/g MS					<.0001	0.0001	0.0001
S/aditivo	18.35Cab	23.90Aab	19.32Bab	0.649			
Micro	16.65Ca	29.67Aa	21.32Ba	1.440			
Quitosana	18.02Cc	20.37Ac	16.90Bc	0.198			
Blend	19.12Ca	24.37Aa	21.80Ba	0.653			
EM, MJ/kg					0.0002	<.0001	0.0001
S/aditivo	4.55Cab	5.65Aab	4.80Bab	0.12			
Micro	4.18Cb	6.55Aa	5.28Ba	0.25			
Quitosana	4.53Cb	5.08Ab	4.55Bb	0.09			
Blend	4.70Ca	5.70Aa	5.23Ba	0.11			
EL, MJ/kg					<.0001	<.0001	<.0001
S/aditivo	2.85Cab	3.65Aab	3.03Bab	0.09			
Micro	2.58Cb	4.33Aa	3.37Ba	0.18			
Quitosana	2.85Cab	3.20Ab	2.83Bb	0.06			
Blend	2.93Ca	3.68Aa	3.35Ba	0.08			
DIVMS, g/kg					0.0418	0.005	0.1054
S/aditivo	498.23Ab	515.13Ba	468.56ABb	5.92			
Micro	517.2Aab	511.31Bab	503.67ABab	3.68			
Quitosana	518.77Aa	478.73Bb	525.89ABa	5.59			
Blend	514.66Aab	471.38Bb	521.15ABab	5.97			
DIVFDN, g/kg					0.1194	0.0223	0.121
S/aditivo	546.42B	564.61A	609.40AB	11.08			
Micro	516.27B	501.04A	590.32AB	15.73			
Quitosana	496.70B	576.24A	507.10AB	9.98			
Blend	440.23B	620.94A	466.62AB	23.29			

S/aditivo = Sem aditivo; Micro = aditivo microbiano; Blend = Quitosana mais aditivo microbiano; Culturas = silagens de milho, milho e sorgo; SEM = Erro padrão da média; GP 24 = Produção de gás em 24 horas; EM = energia metabolizável; EL = Energia líquida; DIVMS = Digestibilidade da matéria seca in vitro; DIVFDN= digestibilidade in vitro da fibra em detergente neutro.

\*As médias seguidas das diferentes letras minúsculas em uma coluna e letras minúsculas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 3 - Efeitos dos aditivos no perfil fermentativo de silagens de milho, milho e sorgo.

Variáveis	Milheto	Milho	Sorgo	SEM	<i>P-valor</i>		
					Aditivos	Culturas	Interação
pH					<.0001	<.0001	0.1229
S/aditivo	3.61Bb	3.65Ab	3.60Ac	0.009			
Micro	3.43Bc	3.63Ac	3.64Ac	0.027			
Quitosana	3.75Ba	3.76Aa	3.77Aa	0.008			
Blend	3.56Bb	3.68Ab	3.75Ab	0.021			
NH <sub>3</sub> -N, g/kg CP					0.0619	0.3935	0.458
S/aditivo	6.86	5.88	5.18	0.38			
Micro	8.26	8.82	4.90	0.47			
Quitosana	6.02	7.00	9.10	0.54			
Blend	5.32	5.88	4.62	0.44			
Ác. acético, µmol/mL					0.157	0.474	0.9494
S/aditivo	0.76	0.62	0.71	0.044			
Micro	0.81	1.03	1.00	0.079			
Quitosana	0.64	0.85	0.88	0.095			
Blend	0.87	1.13	1.07	0.091			
Ác. propiônico, µmol/mL					0.2394	0.0192	0.3946
S/aditivo	1.35B	4.078A	2.18AB	0.398			
Micro	1.46B	1.52A	1.65AB	0.128			
Quitosana	1.02B	2.95A	2.47AB	0.37			
Blend	1.24B	1.86A	2.02AB	0.189			
Ác. butirico, µmol/mL					0.0329	0.1858	0.5636
S/aditivo	0.09b	0.04b	0.09b	0.025			
Micro	0.01ab	0.09ab	0.17ab	0.031			
Quitosana	0.17a	0.55a	0.29a	0.079			
Blend	0.06ab	0.22ab	0.28ab	0.060			

S/aditivo = Sem aditivo; Micro = aditivo microbiano; Blend = Quitosana mais aditivo microbiano; Culturas = silagens de milho, milho e sorgo; SEM = Erro padrão da média; PB = proteína bruta.

\*As médias seguidas das diferentes letras minúsculas em uma coluna e letras minúsculas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 4 - Efeitos dos aditivos nas perdas e recuperação de matéria seca de silagens de milho, milho e sorgo.

Variáveis	Milheto	Milho	Sorgo	SEM	<i>P-valor</i>		
					Aditivos	Culturas	Interação
Perda por gases, % MS					0.3984	0.1915	0.4552
S/aditivo	5.50E-05	1.18E-04	3.74E-04	3.70E-05			
Micro	1.26E-04	2.18E-04	3.46E-03	5.50E-04			
Quitosana	5.00E-05	3.28E-04	4.52E-04	4.70E-05			
Blend	5.40E-05	3.19E-04	3.66E-04	4.50E-05			
Perda por efluentes, kg/t matéria fresca					0.6891	0.2166	0.7182
S/aditivo	0.04	0.19	0.07	0.018			
Micro	0.05	0.05	0.07	0.011			
Quitosana	0.07	0.09	0.09	0.018			
Blend	0.05	0.10	0.09	0.018			
Recuperação de MSD, % MS					0.3019	0.0002	0.1686
S/aditivo	80.22B	90.96A	82.39B	2.407			
Micro	74.07B	96.38A	66.07B	4.159			
Quitosana	70.96B	94.46A	84.77B	3.047			
Blend	50.07B	90.40A	81.24B	4.815			

S/aditivo = Sem aditivo; Micro = aditivo microbiano; Blend = Quitosana mais aditivo microbiano; Culturas = silagens de milho, milho e sorgo; SEM = Erro padrão da média.

\*As médias seguidas das diferentes letras minúsculas em uma coluna e letras minúsculas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 5 – Efeitos dos aditivos nas populações microbianas de milho, milho e silagem de sorgo.

Variáveis	Milheto	Milho	Sorgo	SEM	<i>P-valor</i>		
					Aditivos	Culturas	Interação
Bactérias de ácido láctico, log <sub>10</sub> /g de silagem fresca					0.9481	0.1934	0.669
S/aditivo	6.06	6.65	7.14	0.321			
Micro	6.38	8.11	6.07	0.317			
Quitosana	5.39	6.77	0.00	0.259			
Blend	5.34	6.77	8.24	0.397			
Fungos, log <sub>10</sub> /g de silagem fresca					0.0719	0.2691	0.1805
S/aditivo	4.34	7.56	7.88	0.381			
Micro	6.99	7.36	5.92	0.212			
Quitosana	0.00	6.88	0.00	0.212			
Blend	8.85	7.44	7.09	0.217	0.804	0.5359	0.7549
Mofo, kg de massa ensilada							
S/aditivo	0.62	0.00	0.33	0.088			
Micro	0.37	0.00	0.13	0.058			
Quitosana	0.30	0.00	0.38	0.086			
Blend	0.00	0.00	0.04	0.002			

S/aditivo = Sem aditivo; Micro = aditivo microbiano; Blend = Quitosana mais aditivo microbiano; Culturas = silagens de milho, milho e sorgo; SEM = Erro padrão da média;

\*As médias seguidas das diferentes letras minúsculas em uma coluna e letras minúsculas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## FIGURAS

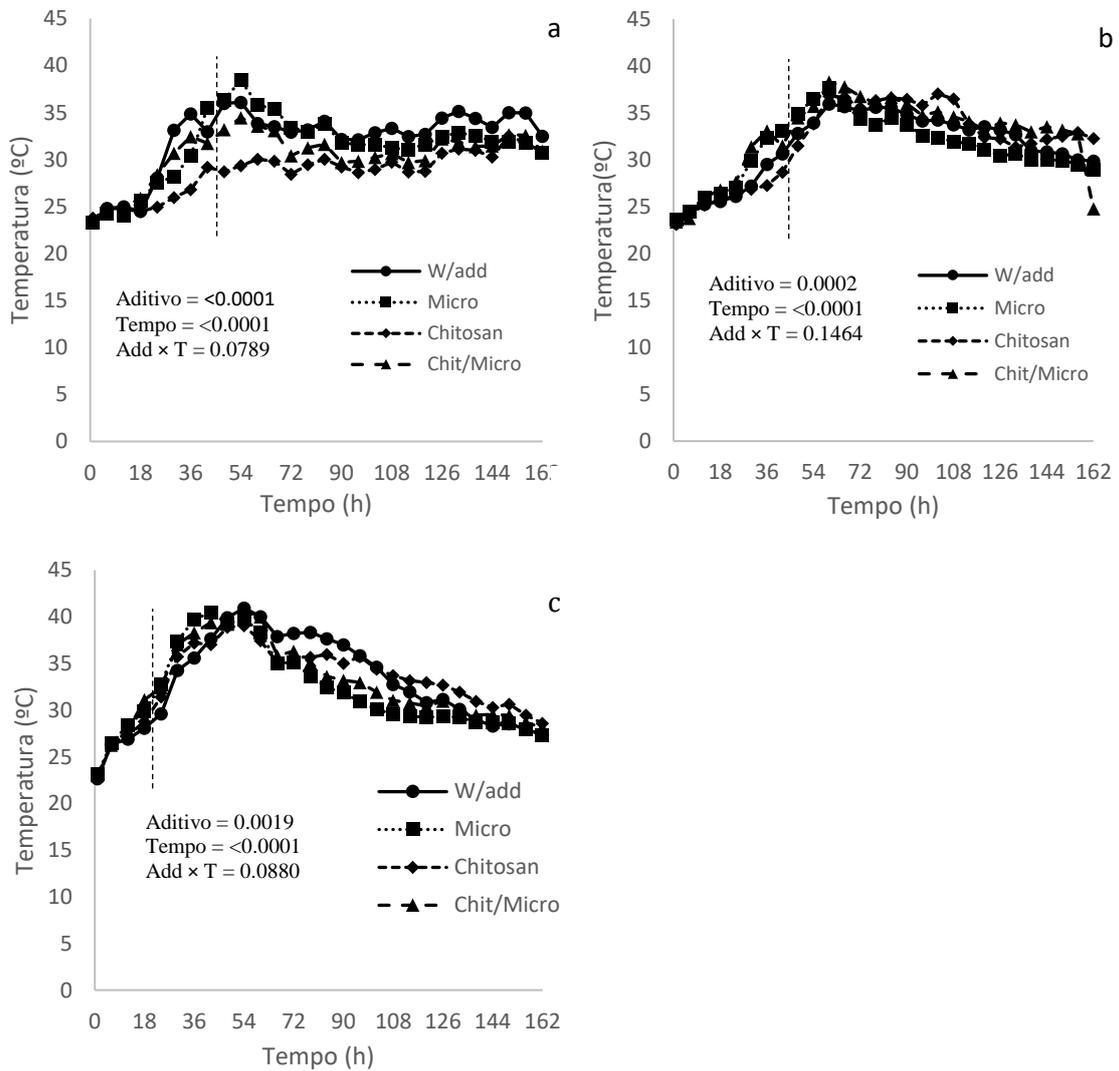


Figura 1. Valores de temperatura da silagem de milho, milho e sorgo com diferentes aditivos por sete dias. W/add = Sem aditivo; Micro = aditivo microbiano; Chitosan= quitosana; Chit/Micro = Quitosana mais aditivo microbiano. No painel (A) milho; (B) Milho; e (C) Sorgo.

## **CONCLUSÃO GERAL**

A utilização de aditivos sequestrantes de umidade nas silagens melhorou o valor nutricional. Por sua vez, o inculante propiciou melhor estabilidade aeróbia na silagem de milho.

A quitosana foi mais eficiente na manutenção da estabilidade aeróbica devido a atividade antibacteriana, este fato reflete na redução de fungos nas silagens.

A escolha de aditivos quando realizada da maneira correta e aplicada de forma eficiente, pode se tornar uma alternativa viável para manutenção do valor nutritivo e também melhorar a estabilidade aeróbica das silagens.