

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO
PAULO**

CAMPUS BARRETOS

LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARIANA BALIE

**DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DE SILAGEM DE MILHO ENSILADA
UTILIZANDO OU NÃO INOCULANTE E PROCESSADOR DE GRÃOS
ACOPLADO À COLHEDORA DE FORRAGENS**

BARRETOS

2018

MARIANA BALIE

**DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DE SILAGEM DE MILHO ENSILADA
UTILIZANDO OU NÃO INOCULANTE E PROCESSADOR DE GRÃOS
ACOPLADO À COLHEDORA DE FORRAGENS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Comissão de Pesquisa do Instituto Federal de
Educação Ciência e Tecnologia de São Paulo,
campus Barretos, sob orientação do Prof. Dr.
Rodrigo Yamakami Camilo e coorientação do
Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis e Ms. Marina
Elizabeth Barbosa Andrade.

BARRETOS, 2018

B186d Balie, Mariana

Digestibilidade *in vitro* de silagem de milho ensilada utilizando ou não inoculante e processador de grãos acoplado à colhedora de forragens / Mariana Balie. – 2018.

34 f. : il.; 30 cm

Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de São Paulo - Campus Barretos, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Yamakami Camilo

1. Grão - Processamento. 2. Digestibilidade. 3. Silagem I. Título.

CDD: 664.7

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Valmir** e **Sandra**, meu irmão
Matheus e sobrinho **Antonio**, pelo amor
incondicional, por sempre acreditarem em
mim e serem a razão de todos meus esforços.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela fé e por iluminar todo o meu caminho até aqui.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Campus Barretos, pela oportunidade de fazer o curso. À direção, administração e demais funcionários por todo o suporte durante a graduação.

Ao meu orientador e professor Rodrigo Yamakami Camilo, por acreditar em mim na realização desse trabalho e ser exemplo de dedicação e humildade. Por toda a paciência e amparo nos momentos de dificuldade durante a graduação. Minha eterna gratidão e admiração.

Aos meus co-orientadores, da Unesp/FCAV – Jaboticabal, professor Ricardo Andrade Reis e pós graduanda Marina Elizabeth Barbosa Andrade, do departamento de Zootecnia, pela oportunidade e me aceitarem para realizar o projeto. Pela confiança depositada e pelos ensinamentos e experiências adquiridas. Sem vocês nada disso seria possível. Marina, obrigada por tudo que fez por mim durante todo o experimento e contagiar tudo com sua alegria!

Ao Laboratório de Nutrição Animal – LANA, Unesp/FCAV – Jaboticabal, por ceder a sala de Produção de Gases e assim realizar o experimento. Ao Sr. Antônio e a Ana Paula coordenadora do laboratório por todo suporte.

Ao Laboratório de Forragicultura e Pastagens, Unesp/FCAV- Jaboticabal, onde se deu início ao projeto.

Aos meus professores de graduação, Rodrigo Yamakami, Rodrigo Zieri, Marcos de Lucca Jr., Marina Telles, Alessandra Santana, Rodrigo Castro, Emanuel Rodrigues, Ailson Vasconcelos, Guilherme Canella, Tatiane Palazzo, Alexandre Cardoso e todos que fizeram parte nesse processo da construção do conhecimento e assim contribuindo em minha formação profissional. Que sempre se dedicaram por mim e todos os alunos da instituição.

Aos meus amigos de graduação, Gislane, Jorge, Cristiane, Kaique, Pamela, Carol, Gabriela, Bruna, Leonardo, João, Sindia, Ariane, Keydson, Wilber, Leticia, Ana Letícia por todo apoio e convivência durante esse tempo. Por tornar tudo mais leve e alegre. Estarei sempre torcendo por vocês.

A minha amiga-irmã Laís Amaral, que foi minha primeira amizade na graduação e permanece até hoje. Por ser alicerce e sempre torcer por mim. Pelo companheirismo, conselhos e puxões de orelha. Estarei sempre com você.

As amigas de república, Vanessa, Vitória, Giulia, Maiara e Valeska por todo o apoio que me deram nesse tempo e aguentarem minhas neuras. Pelos churrascos, festas, rodízios e quilos adquiridos. E me orgulhar do quanto uma torce pela outra. Vocês são muito especiais pra mim!

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte desse projeto e da minha formação.

MUITO OBRIGADA.

RESUMO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – UNESP (Jaboticabal) com o objetivo de avaliar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN), cinética de fermentação de silagens de milho utilizando o híbrido Impacto Víptera (Syngenta®) submetidas ou não ao processamento dos grãos utilizando a ensiladeira New Pegasus®, Nogueira Máquinas e inoculadas ou não com *Lactobacillus buchneri*. O experimento foi conduzido segundo o delineamento inteiramente ao acaso: 4 tratamentos × 2 tempos de amostragem (24 e 48 horas) × 3 repetições. Os teores médios de MS e FDN foram, respectivamente 33,05% e 50,3%. Nos tempos de amostragem de 3 e 48h houve aumento na produção de gás nos tratamentos com o uso do processador de grãos, indicando que os danos físicos dos grãos permitiu o maior acesso dos microrganismos fermentadores. A digestibilidade da FDN não se alterou entre os tratamentos referentes ao processamento dos grãos e a utilização de inoculante proporcionou melhor digestibilidade de MS.

Palavras-chave: degradabilidade *in vitro*, *Lactobacillus buchneri*, processamento de grão.

ABSTRACT

The experiment was conducted at the Laboratory of Animal Nutrition (LANA) of the School of Agricultural and Veterinarian Sciences (FCAV) - UNESP (Jaboticabal) with the objective of evaluating the *in vitro* digestibility of dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF), fermentation kinetics of corn silages using the Impacto VÍptera hybrid (Syngenta ®) submitted or not to grain processing using New Pecus® forage harvester, Nogueira Machines and inoculation or not with *Lactobacillus buchneri*. The experiment was conducted according to a completely randomized design: 4 treatments × 2 sampling times (24 and 48 hours) × 3 replicates. Values average of DM and NDF contents were 33,05% and 50,3%, respectively. In the evaluation times 3 and 48h there was an increase in the gas production in the processed grains treatments, indicating that the damage of the grain allows the easy access of the fermenting microorganisms. Digestibility of NDF did not change among treatments, however the use of inoculant provided better DM digestibility.

Keywords: *in vitro* degradability, *Lactobacillus buchneri*, grain processing.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos de bactérias que produzem ácido lático em silagens.....	15
Tabela 2 – Características indicativas para avaliação de qualidade de silagens.....	16
Tabela 3 – Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos, expressos em porcentagem na matéria seca.....	21
Tabela 4 – Valores de pH em 24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho no estudo <i>in vitro</i>	22
Tabela 5 – Digestibilidade da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) em 24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho.....	24
Tabela 6 – Produção de gás em mL/g de matéria orgânica (PGMO) e em mL/g de matéria seca (PGMS), produção relativa a 48h (PR48h), e taxa de produção por hora (TPh) em 3,6,9,12,24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho.....	26
Tabela 7 – Produção de gás total em mL/g de matéria orgânica (PGMO) e em mL/g de matéria seca (PGMS), em 48 horas de fermentação de silagem de milho.....	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção de gás em mL/g de matéria orgânica (MO) em 48 horas de fermentação de silagem de milho.....	25
---	----

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

MS: matéria seca

TP: tamanho de partícula

FDN: fibra em detergente neutro

MM: matéria mineral

PB: proteína bruta

CPSI: com processador de grãos e sem inoculante

SPSI: sem processador de grãos e sem inoculante

CPCI: com processador de grãos e com inoculante

SPCI: sem processador de grãos e com inoculante

CNF: carboidratos não fibrosos

AGCC: ácidos graxos de cadeia curta

DIVMS: digestibilidade *in vitro* da matéria seca

DIVFDN: digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro

PGMS: produção de gás de matéria seca

PGMO: produção de gás de matéria orgânica

BAL: bactérias de ácido lático

AGVs: ácidos graxos voláteis

CH₄: metano

CO₂: dióxido de carbono

H₂: hidrogênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	13
3. HIPÓTESE.....	14
4. JUSTIFICATIVA	14
5. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
5.1. Processo fermentativo da silagem	14
5.2. Fibra em Detergente Neutro (FDN).....	16
5.3. Método <i>In Vitro</i>	17
5.4. Inoculantes bacterianos.....	18
6. MATERIAIS E MÉTODOS	19
6.1. Local e época	19
6.2. Tratamento e processo de ensilagem	19
6.3. Fermentação ruminal em condições <i>in vitro</i>	19
6.4. Delineamento experimental e análise estatística	21
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
8. CONCLUSÃO.....	28
9. REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de carne bovina e sexto maior produtor de leite do mundo, que segundo a EMBRAPA isso é resultado dos investimentos em tecnologia que não só elevou a produtividade como também a qualidade dos produtos brasileiros.

As pastagens constituem a base da alimentação animal no Brasil, sendo fonte de nutrientes para os ruminantes (Santos, 2012). No contexto da exploração pecuária brasileira, a estacionalidade de produção de forragem tem sido considerada um dos principais limitantes da produção animal com base em pastagens, sendo caracterizada por variações na disponibilidade e qualidade da forragem em resposta às alterações nas condições climáticas, as quais não permitem que as plantas forrageiras tenham crescimento uniforme durante todo o ano (Reis & Rosa, 2001). Com isso, produtores recorrem à alternativas para contornar esses problemas.

Uma alternativa comum no país é a conservação da forragem pela ensilagem, que quando bem selecionada e armazenada podem alimentar o rebanho com baixo custo ao produtor, muitas vezes até sem o uso conjunto de suplementações com concentrados.

D'Oliveira & Oliveira (2014) definem:

“Silagem, por tanto, é o produto resultante de um processo específico de anaerobiose, por acidificação do material vegetal verde, e que permite seu armazenamento por longos períodos, conservando seu valor nutritivo. A ensilagem é o processo que tem por objetivo a conservação de forragem verde, com um valor nutritivo mais próximo do material original, e com perdas mínimas”.

Para obter uma silagem de qualidade, Silva et al. (2014) salientam que o conhecimento sobre características agronômicas e o valor nutritivo das espécies que se pretende conservar são de fundamental importância. Importante verificar se a espécie vegetal tem aceitação pelo animal e as características ideais de ensilabilidade, como teor de MS adequado (30 a 35% MS) no momento do corte, alto teor de carboidratos solúveis e baixo poder tampão (Reis et al., 2008).

Devido a estes fatores, a silagem de milho é bastante utilizada sendo considerada como o principal suplemento volumoso em rebanhos. É notório ter um conhecimento das características agronômicas e bromatológicas da planta a ser utilizada, pois estas características afetarão o valor nutritivo da forragem conservada. Um exemplo seria a escolha

do estágio de maturidade do grão, que de acordo com D'Oliveira & Oliveira, (2014), deve estar entre a textura pastosa e farinácea dura (linha de leite entre 1/3 e 2/3 do grão).

A colheita é realizada quando a planta inteira atinge o teor de matéria seca (MS) desejável, entre 30% e 35%. É considerado indesejável o teor de MS abaixo de 30% por apresentar uma menor quantidade de grãos e com isso eleva os teores de fibra e reduz os teores de energia da silagem, como acima de 35% também é considerado indesejável, pois há aumento da resistência da massa de silagem à compactação durante a sua confecção e assim reduzindo sua densidade (Cruz et al., 2009). Outros benefícios do milho incluem a maior capacidade de fermentação, alto valor energético e o seu cultivo poder ser totalmente mecanizado.

O tamanho da partícula (TP) deve ser considerado no momento da colheita em que o TP é alterado por meio do processamento mecânico no qual há a ação de esmagamento e quebra do grão contido na planta de milho. Essas máquinas possuem um sistema de processamento da fração por rolos esmagadores que são regulados com uma abertura entre 1,0 a 5,0 mm (Johnson et al., 1999). A importância do TP se dá quando as bactérias conseguem ter um maior acesso aos nutrientes digestíveis do grão e assim uma melhor digestão pelo animal.

Estudos têm apontado que a utilização de inoculantes bacterianos alteram o processo fermentativo (Hu et al., 2009; Basso et al., 2014; Rabelo et al., 2018; Lara et al., 2018) e podem ter efeito direto sobre a digestibilidade do amido. A adição de *Lactobacillus buchneri* (bactéria ácido-lática heterofermentativa) como inoculante, parece afetar os produtos finais da fermentação e a disponibilidade do amido. Esta hipótese foi primariamente suportada pelo contínuo aumento na concentração de 1,2-propanodiol (produto do metabolismo do ácido láctico pelo *L. buchneri*) e N amoniacal no decorrer do período de armazenagem da silagem de milho (Kleinschmit & Kung, 2006). Posteriormente, a maior disponibilidade do amido no decorrer do período de armazenagem foi atribuída à degradação das zeínas hidrofóbicas causada pelo aumento da atividade proteolítica em silagens de grãos úmidos de milho (Hoffman et al., 2011).

2. OBJETIVO

Avaliar a digestibilidade *in vitro* da MS e FDN, cinética de fermentação de silagens de milho, com e sem processamento de grãos, através da utilização ou não de processador de grãos acoplado à colhedora de forragens e o uso ou não de inoculante heterofermentativo (*Lactobacillus buchneri*).

3. HIPÓTESE

O processamento dos grãos associado ou não ao uso de inoculantes altera a digestibilidade in vitro da MS e da FDN de silagens de milho.

4. JUSTIFICATIVA

Apesar dos avanços em pesquisas sobre a silagem de milho, observa-se uma necessidade de novos estudos sobre o uso de maquinário para ensilagem com processador de grão acoplado, sobre o efeito na fermentação e posterior aproveitamento dos produtos dessa fermentação pelos microorganismos ruminais. Assim como maior elucidação a respeito do processamento dos grãos associado ao uso de inoculantes heterofermentativos. Sendo que, esse maior aporte e disponibilidade de nutrientes advindos da fonte volumosa da dieta pode permitir a formulação de dietas com menor utilização de concentrado, e com isso pode-se reduzir o custo alimentar.

5. REVISÃO DE LITERATURA

5.1. Processo fermentativo da silagem

É fundamental que o processo de fermentação seja eficiente durante todo o período de armazenamento da silagem. Por isso deve-se submeter a forragem em um ambiente anaeróbio, impedindo que ocorra a respiração celular e assim propicia condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido láctico (Thomic et al., 2003). Essas bactérias produtoras de ácido láctico (BAL) reduzem o pH da forragem que foi ensilada fazendo com que iniba a ação de microorganismos e enzimas que possam causar perdas e deterioração.

A remoção do oxigênio resulta em uma mudança para o metabolismo anaeróbico, no qual há uma rápida proliferação de microorganismos com a produção de produtos neutros e produtos finais ácidos. As bactérias mais ativas são as enterobactérias e BAL. Os produtos finais ácidos reduzem o pH da silagem e favorecem o crescimento de BAL mais tolerantes ao meio ácido. Quando o substrato não é limitante, as BAL dominam a fermentação, produzindo ácido láctico que acidifica a silagem até se obter um pH que suprime o crescimento de BAL e assim resulta numa silagem estável (Rooke & Hatfield, 2003).

Pode-se separar em 4 fases o processo de fermentação (Lugão et al., 2011): Sendo que a primeira seria a fase aeróbia, no qual há a presença de oxigênio. Começa desde a colheita até o armazenamento e por isso deve ser feito rápido e termina quando todo o oxigênio se esgota. Por isso a compactação deve ser eficiente nesta etapa, para que não se tenha muito oxigênio e

ocorra pouca respiração celular. A segunda fase deve ser anaeróbia, permitindo o crescimento das bactérias iniciais como as heterofermentativas, enterobactérias e as BAL (que suportam mais o ácido acético e calor) e que após 24 e 72 horas produzem ácido lático, gás carbônico, etanol e ácido acético. O acúmulo destes ácidos faz com que o pH do meio diminua. Já na terceira fase ocorre a estabilidade da silagem, pois o processo fermentativo cessa com algumas atividades mínimas de BAL. E por fim, a quarta fase de deterioração aeróbia se dá início após a abertura do silo. A exposição da silagem, propicia a degradação do ácido lático pela ação de leveduras, e assim o pH aumenta e ocorre a degradação dos nutrientes pela ação de bactérias aeróbias e fungos filamentosos. Nesta fase, a temperatura aumenta e a atividade de decompositores também.

Agrupam-se em dois grupos as bactérias que fermentam açúcares (carboidratos solúveis) em ácido lático, ou seja, são agrupadas de acordo com o produto final da sua fermentação (tabela 1). As homofermentativas (apenas produzem ácido lático) e as heterofermentativas (além de ácido lático, substâncias como dióxido de carbono, ácido acético, etanol, aldeído e diacetil) (Carr et al., 2002).

Tabela 1 – Exemplos de bactérias que produzem ácido lático em silagens

Homofermentativas	Heterofermentativas
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
<i>Lactobacillus acidiphilus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroids</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	
<i>Lactobacillus salivarius</i>	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	
<i>Pediococcus acidilactici</i>	
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	
<i>Streptococcus bovis</i>	

Fonte: McDONALD et al., 1991

Em termos práticos, o produtor pode enviar amostras das silagens para análise laboratorial ao decorrer do período de armazenamento para avaliar a qualidade através de características indicativas de silagens com valor nutritivo adequado (Tabela 2). Se isso não for possível, pode-se avaliar as silagens através da observação em campo de parâmetros como conteúdo de grãos, cor, odor, umidade e tamanho da partícula e atribuindo pontos. (D'Oliveira & Oliveira, 2014).

Tabela 2 – Características indicativas para avaliação de qualidade de silagens

Parâmetro	Valor adequado
pH	3,8 a 4,2
Ácido láctico	6 a 8%
Ácido acético	< 2%
Ácido propiônico	0 a 1%
Ácido butírico	< 0,1%
N amoniacal (% de N total)	< 10%

Fonte: FERREIRA, 2001

5.2. Fibra em Detergente Neutro (FDN)

Weiss (1993), definem fibra como: 1) o componente estrutural das plantas; 2) a fração menos digestível do alimento; 3) a fração do alimento que não pode ser digerida pelas enzimas dos mamíferos; e 4) a fração do alimento que promove a ruminação e a saúde do rúmen.

É importante que a planta escolhida para a produção da silagem tenha fibras de melhor digestibilidade. Ao se analisar o teor de FDN, é possível determinar a quantidade total de fibra do alimento. A FDN é o método que separa carboidratos estruturais daqueles não estruturais presentes nas plantas, isolando assim os compostos químicos considerados constituintes da fibra (NRC, 2001).

Ter uma quantidade adequada de fibra (FDN dietética) é importante para a ruminação, fluxo de saliva, tamponamento ruminal, saúde e funcionalidade da parede do rúmen (FOX et al., 1992). É necessário em vacas em lactação obter teores apropriados de FDN para prevenir a depressão no teor de gordura do leite (Armentano & Pereira, 1997).

Cruz, (2009) afirma:

“Os teores de FDN variam conforme a espécie vegetal e o estágio vegetativo. Normalmente, os teores de FDN nas leguminosas são mais baixos do que nas gramíneas. Dentro da mesma espécie vegetal, as plantas mais novas apresentam teores de FDN mais baixos, o que é facilmente detectado com o maior consumo pelos animais”.

Segundo Allen (1997) as dietas devem ser formuladas com o objetivo de manter o pH ruminal e que variações deste parâmetro devem ser minimizadas por meio do manejo nutricional. Diferenças de porcentagem de matéria orgânica degradável no rúmen, nas dietas,

podem influenciar o pH ruminal. De acordo com Allen (1997) a fibra tem uma grande influência no pH ruminal, pois esta aumenta o efeito de mastigação, fluxo de saliva e dilui componentes mais fermentáveis da dieta. Portanto a formulação de dietas baseadas na fibra em detergente neutro (FDN) como uma porcentagem da matéria seca (MS) é recomendada (NRC,2001).

5.3. Método *In Vitro*

Cada vez mais o setor agropecuário investe em pesquisas científicas para a melhoria dos sistemas de produção. A melhoria do desempenho animal está ligada à sua nutrição como a digestibilidade e atuação do alimento no metabolismo do ruminante.

Entretanto, experimentos que formulam uma dieta visando suprir as necessidades nutricionais e conseguir um maior desempenho com o animal apresentam alto custo e também demora na obtenção de resultados.

Por isso, foram sendo estudados e desenvolvidos técnicas laboratoriais, exemplo o método *in vitro*, desenvolvida por Tilley & Terry (1963), como alternativa e também visando o bem estar animal por não ser tão invasivo. Estudos de cálculo e composição bromatológica dos alimentos são importantes junto à técnica, podendo assim calcular o valor nutritivo da matéria utilizada.

Este método consegue estimar a degradação dos nutrientes por meio dos produtos finais. Dentre as principais vantagens dos métodos *in vitro*, encontram-se o baixo custo, a rapidez na obtenção de resultados, o elevado controle ambiental e a possibilidade de se trabalhar com grande número de tratamento e baixas quantidades de amostra (Araújo, 2010). Sendo que é o método que mais se aproxima do *in vivo*, tanto nos processos digestivos do rúmen como também nos valores de digestibilidade (Silveira, 2006).

Segundo Lemos (2011, *apud* López, 2005):

“A digestibilidade é medida por gravimetria de desaparecimento do substrato quando o alimento é incubado na presença de conteúdo ruminal diluído em uma solução tampão, sendo que um período de incubação de 48 horas tem sido sugerido para as técnicas gravimétricas como o tempo total ideal para uma melhor precisão das estimativas de digestibilidade”.

Theodorou et al. (1994), dizem que esta técnica por meio da medida dos gases (CO₂ e CH₄) que são produzidos pela fermentação dos carboidratos, pode-se estimar o valor

nutricional do alimento em análise, e avaliar sua cinética de fermentação no decorrer das horas de avaliação.

5.4. Inoculantes bacterianos

A silagem é preservada pela fermentação ácida e as bactérias homofermentativas são desejáveis, entretanto outros microrganismos causam fermentação ineficiente e podem levar a silagem à deterioração (McDonald et al, 1991).

A planta de milho apresenta características desejáveis ao processo de ensilagem, entretanto, após a abertura dos silos, a silagem torna-se susceptível à deterioração pela presença de ácido lático e alta concentração de nutrientes, os quais são utilizados como substrato para o desenvolvimento, principalmente, de leveduras, bactéria aeróbicas e fungos filamentosos, causando a deterioração da silagem, o que afeta o consumo e desempenho animal (Salvo et al., 2013). Lara et al. (2015) e Basso et al. (2012) ao utilizarem inoculante em silagem de milho, indicaram melhora no valor nutricional e na estabilidade aeróbica.

O uso de inoculantes tem demonstrado ser eficiente em acelerar o processo de fermentação e reduzir a perda de nutrientes, melhorando desta forma o valor nutritivo de silagens (Mahanna, 1993). Ao serem adicionados no processo de ensilar, resultam em uma rápida e intensiva produção de ácido lático acelerando a queda do pH, melhorando a preservação e minimizando perdas (Pitt, 1990 e Weinberg et al., 1995). Estes aditivos apresentam as seguintes vantagens: facilidade de uso, ser seguro, não ser corrosivo, não poluir o meio ambiente e conservar naturalmente o produto (Filya et al., 2000).

Os inoculantes que contém microrganismos *L. buchneri* tem como finalidade a produção ácido lático e acético. Embora, o último ácido seja mais fraco que o primeiro, tornando menos eficiente para garantir a fermentação exclusivamente láctica, este tem duas funções adicionais, melhorar a estabilidade aeróbica e inibir o crescimento de leveduras após a abertura do silo (Driehuis et al., 1999). Nos trabalhos de Basso et al. (2012) e Salvo et al. (2013), as silagens tratadas com *L. buchneri* foram mais estáveis do que a silagem sem o tratamento (controle).

No entanto, a digestibilidade da MS pode não ser afetada ao se utilizar o *L. buchneri*, como relataram Rabelo et al. (2017), contrário a Basso et al. (2014) onde a digestibilidade da MS foi menor ao se utilizar inoculante. Salvo et al. (2013) observaram que a digestibilidade da MS foi maior em resposta a inoculação. Já a digestibilidade da FDN não foi alterada ao se comparar silagens com inoculante e sem inoculante (Rabelo et al., 2017; Basso et al., 2014; Basso et al., 2018; Salvo et al. 2013).

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. Local e época

O processo de ensilagem, ensaio *in vitro*, bem como todas as análises laboratoriais, foram conduzidos no Laboratório de Forragicultura e Pastagens e no Laboratório de Nutrição Animal, ambos do Departamento de Zootecnia da UNESP/FCAV Câmpus de Jaboticabal, SP, durante o período de Janeiro a Outubro de 2018.

6.2. Tratamento e processo de ensilagem

Foram utilizados silos experimentais feitos com tubos de PVC com capacidade de 5L, com a silagem compactada por soquetes de madeira, visando obter-se uma massa específica próxima a 600 kg/m³ de matéria natural. Para a produção da silagem foi utilizado o híbrido de milho Impacto Víptera (Syngenta®), colhido à 2/3 da linha de leite no grão, o que corresponde a aproximadamente 35% de MS em toda a planta, respectivamente. Após a colheita, parte do milho foi ensilado com *L. buchneri* CNCM I-4323 (Lallemand Animal Nutrition, Goiânia, GO, Brasil) em uma concentração de 1 × 10⁵ unidades formadoras de colônia (ufc)/g de forragem, e outra parte permaneceu sem a adição do inoculante (controle). O inoculante foi diluído em água destilada (5 L/t) e aplicado sobre a forragem com auxílio de borrifador manual sob constante homogeneização da forragem. A mesma quantidade de água foi aplicada sobre a forragem do tratamento controle. Estes foram identificados, lacrados, pesados, armazenados sob temperatura ambiente e abertos após 150 dias de armazenagem, os silos foram abertos, as silagens amostradas, secas em estufa com circulação de ar a 65° C e moídos a 1 mm.

6.3. Fermentação ruminal em condições *in vitro*

Os tratamentos testados foram: 1) Com processador de grãos e sem inoculante (CPSI); 2) sem processador de grãos e sem inoculante (SPSI); 3) com processamento de grãos e com inoculante (CPCI); 4) sem processamento de grãos e com inoculante (SPCI). A colheita do milho foi realizada de forma mecanizada, parte com a ensiladeira New Pecus®, Nogueira Máquinas, contendo processador de grãos, e outra parte com a ensiladeira sem processador de grãos.

A cinética de produção de gás *in vitro* (Theodorou *et al.*, 1994) e o pH foram avaliados em uma rodada e em outra rodada avaliou-se a digestibilidade da MS e FDN, seguindo as metodologias descritas por Mauricio *et al.* (1999). As amostras (0,5 g), em triplicata, foram colocadas em frascos de vidro com capacidade de 125 mL. No dia da incubação, a solução

tampão preparada de acordo com Goering & Van Soest, (1970) foi continuamente infundida com CO₂ em frascos volumétricos mantidos em banho-maria a 39°C por 30 minutos. Posteriormente, a solução redutora foi adicionada aos frascos volumétricos sob contínua infusão de CO₂. O líquido ruminal utilizado na análise in vitro foi colhido pela manhã por meio da cânula ruminal de dois ovinos mestiços adaptados à dieta (silagem de milho). O líquido ruminal foi colhido em garrafas térmicas pré-aquecidas e filtradas por meio de duas camadas de gazes. Em seguida, o líquido ruminal foi misturado e adicionados aos frascos volumétricos na proporção de 1 parte de líquido ruminal e 4 partes da solução tampão sob contínua infusão de CO₂. Após este procedimento, 50 ml da solução tamponada do inóculo ruminal foi adicionada às garrafas utilizando-se um dispensador automático. Então, os frascos foram aspergidos com CO₂, imediatamente tampados com rolha de borracha siliconada e colocados em banho-maria a 39° C. Foram incubados dois frascos “brancos”, apenas com inóculo e solução tampão, quantificando-se assim a produção de gases oriunda da fermentação produzida pelo inóculo.

Na primeira rodada a pressão do gás produzido dentro das garrafas foi mensurada após 3, 6, 9, 12, 24 e 48 horas de fermentação, utilizando-se um transdutor de pressão conectado a um datalogger modelo “GN200”. Com 24 e 48 horas de fermentação foram retiradas triplicatas de cada tratamento e realizadas as leituras de pH. As leituras de pressão de gás foram convertidas para volume de gás utilizando-se a equação específica para as nossas condições laboratoriais (Eq. 1).

$$V \text{ (mL)} = (5,4766 \times P) + 0,0934 \quad (1)$$

em que V é o volume de gás e P é a pressão mensurada em psi.

A produção de gás bruta foi ajustada pela subtração da produção de gás dos brancos (garrafas contendo somente o inóculo ruminal tamponado) e também ajustada proporcionalmente por um fator obtido de uma amostra padrão (feno de Tifton 85) com conhecida composição química e produção de gás. A produção de gás foi expressa em mL/g de matéria orgânica (MO).

Na segunda rodada, para análise da digestibilidade da MS e FDN foram retirados os frascos em triplicata nos tempos 24, e 48h as mesmas foram obtidas por diferença de peso das amostras, antes e depois de incubadas. Os resíduos de fermentação foram obtidos por meio de filtragem do conteúdo dos frascos em sacos ankom® F 57, previamente pesados, secagem por 24h em estufa a 105°C e pesagem para o posterior cálculo dos valores da digestibilidade da matéria seca (DMS). Após, foram alocados no equipamento Ankom200 Fiber Analyzer (Ankom Technology, Fairport, NY) com solução detergente neutro (Van Soest, 1994) e

mantidos durante 1 hora a 100°C. O resíduo de fibra foram lavados 3 vezes em água quente (100 ° C) por 5 minutos, lavados em acetona e secos em estufa a 105 °C durante 24 h e depois pesados para o posterior cálculo dos valores da digestibilidade *in vitro* da FDN (DFDN). Também avaliaram-se os teores de MS e FDN das silagens utilizadas nos respectivos tratamentos, para posterior cálculo da DMS e DFDN.

A incubação *in vitro* consistiu na utilização de 30 garrafas na primeira rodada: 4 tratamentos × 2 tempos de amostragens × 3 repetições, mais 4 garrafas em branco e 2 garrafas padrão (feno) e 24 garrafas na segunda rodada: 4 tratamentos × 2 tempos de amostragens × 3 repetições.

6.4. Delineamento experimental e análise estatística

As avaliações *in vitro* foram conduzidas sob um delineamento inteiramente ao acaso considerando as garrafas (n = 3) como repetições. Os dados foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS (v. 9,4). Os substratos utilizados na incubação e os tratamentos avaliados foram considerados efeitos fixos.

Diferenças entre médias foram comparadas pela opção PDIFF do LSMEANS, o qual é baseado na diferença mínima significativa do teste de Fisher. Diferenças significativas foram declaradas a 5% de significância.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 são apresentados os dados dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos, expressos em porcentagem na matéria seca. Estes dados estão próximos aos valores obtidos por Moreira (2010) que registrou 33,56% de MS, 8,58% PB e 48,39% FDN e por Marafon (2013) com 34,30% de MS, 6,4% PB, 41,07% FDN e 3,84% de MM.

Tabela 3. Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos, expressos em porcentagem na matéria seca.

Tratamento/ Silagem	MS (%)	MM (%)	PB (%)	FDN (%)
1 - CPSI	32,8	3,38	8,92	51,0
2 - SPSI	33,4	3,42	8,94	49,7
3 - CPCI	32,5	3,39	8,92	51,0
4 - SPCI	33,5	3,41	8,93	49,5

CPSI = com processador de grãos e sem inoculante; SPSI = sem processador de grãos e sem inoculante; CPCI= com processador de grãos e com inoculante; SPCI= sem processador de grãos e com inoculante.

Champion (2010) apresenta que a colheita da planta de milho com teor de matéria seca entre 30 a 35%, por meio de sua composição física morfológica, apresenta aproximadamente 56% de conteúdo celular e 44% de parede celular, Marafon (2013) concluiu ser um alimento com alta digestibilidade. Em trabalhos realizados por Johnson et al. (1999) e Nussio et al. (2001) o aumento da matéria seca aumenta a capacidade de consumo e produção de leite, sendo que as MS de 30 a 36% propiciou condições adequadas para a fermentação e preservação dos nutrientes da forragem.

Os valores de FDN obtidos estiveram entre 49,5% e 51% que é considerado uma porcentagem valor adequado para se garantir o consumo e a digestibilidade das silagens de milho. Segundo Rodrigues et al. (2004) valores de FDN acima de 55% são considerados altos nas avaliações de valor nutritivo de silagens de milho.

Os valores de pH em 24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho (Tabela 4) em todos os tratamentos (T1 CPSI, T2 SPSI, T3 CPCI e T4 SPCI) não apresentaram diferenças estatísticas tanto no tempo de 24 horas com valores de pH (6,87; 6,89; 6,90; 6,86 respectivamente) quanto no tempo de 48h (6.73; 6.74; 6.70; 6.79 respectivamente).

Tabela 4. Valores de pH em 24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho no estudo *in vitro*.

Tratamento/ Silagem	pH 24h	pH 48h
1 - CPSI	6,87 ± 0,018 ^{Aa}	6,73 ± 0,018 ^{Ab}
2 - SPSI	6,89 ± 0,018 ^{Aa}	6,74 ± 0,018 ^{Ab}
3 - CPCI	6,90 ± 0,018 ^{Aa}	6,70 ± 0,018 ^{Ab}
4 - SPCI	6,86 ± 0,018 ^{Aa}	6,79 ± 0,018 ^{Ab}

CPSI = com processador de grãos e sem inoculante; SPSI = sem processador de grãos e sem inoculante; CPCI= com processador de grãos e com inoculante; SPCI= sem processador de grãos e com inoculante. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste PDIFF a 5% de probabilidade.

As médias dos valores de pH obtidas nos tratamentos em ambos os tempos se mostraram dentro da amplitude adequada de pH ruminal, próximo a neutralidade considerada por diversos autores. A faixa de pH para que a atividade microbiana ocorra normalmente no rúmen é de 6,7±0,5 (Van Soest, 1994). Valores abaixo de 6,2, levam à redução na digestão da fibra devido à sensibilidade das bactérias fibriolíticas e o ponto ótimo de digestão da fibra ocorre em valores de pH entre 6,7 e 7,1 (Ørskov, 1998). Valores de pH próximos ao neutro, aumenta o crescimento de microrganismos metanogênicos (Janssen, 2010).

Beleosoff (2013) afirma que os valores de pH nas produções *in vitro* devem se manter entre 6,2 e 6,8 e que a solução tampão produzida é importante para evitar o declínio do pH uma vez que isso normalmente ocorre no rúmen quando há a ingestão de alimentos

rapidamente degradáveis. Para Navarro-Villa et al. (2011), a metodologia *in vitro* possui um tamponamento forte e assim não permite que o pH possa reduzir.

Silagens apresentam um valor de pH variando de 3,5 a 5,0, enquanto que forragem fresca e feno valores próximos a 6,0 (Reis et al., 2008). Portanto, a silagem no rúmen sofre uma elevação do pH, chegando a valores próximos a 6,0 e assim pode requerer maiores quantidades de substâncias tamponantes, diferente das dietas à base de forragem fresca e feno que não requerem o uso desses compostos na mesma intensidade (Weiss et al., 2003). Reis et al. (2008), enfatizam que o pH do rúmen não se relaciona com a acidez das silagens, pois o rúmen possui um efeito tamponante e assim ajustando os valores de pH. Rooke (1995) também cita essa não relação já que a saliva pode neutralizar a acidez proveniente da forragem consumida.

No trabalho de Cabral (2002), os valores de pH na silagem de milho iniciaram com pH 7,0 e ao longo do tempo uma diminuição, chegando ao pH de 6,07 no tempo de 8 horas. Essa queda do pH ruminal é relacionada ao aumento da produção de ácidos totais e ácido láctico, devido a rápida fermentação dos carboidratos não fibrosos (CNF) e alteração microbiana incluídos em quantidades elevadas na dieta (Cabral, 2002). Esse aumento da acidez no rúmen requiere quantidades adicionais de substâncias tamponantes para manter o pH ruminal (Reis et al., 2008).

Houve diferença estatística em relação a uma diminuição do pH no tempo de 48h comparado ao tempo de 24h, que de acordo com Williams et al. (2010) essa diminuição provavelmente ocorreu devido à produção de AGCC na fermentação ruminal.

Na Tabela 5 encontram-se os resultados em porcentagem da digestibilidade da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) nos tempos de 24 e 48 horas de fermentação. Onde a DIVMS aumentou no tempo de 48h e a DIVFDN diminuiu no tempo de 48h. Isso ocorreu porque o alimento é degradado pelas bactérias presentes, sendo os carboidratos solúveis rapidamente degradados, restando a parte fibrosa, que é parcialmente degradável, em função do conteúdo de FDNi lignificado.

Tabela 5. Digestibilidade da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) em 24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho.

Tratamento/ Silagem	DIVMS (%)		DIVFDN (%)	
	24h	48h	24h	48h
1 - CPSI	46,74 ± 1,501 ^B	57,40 ± 1,501 ^C	31,09 ± 1,095 ^A	27,36 ± 1,095 ^A
2 - SPSI	41,94 ± 1,501 ^C	61,03 ± 1,501 ^B	33,63 ± 1,095 ^A	26,87 ± 1,095 ^A
3 - CPCI	45,53 ± 1,501 ^B	63,04 ± 1,501 ^{AB}	31,68 ± 1,095 ^A	27,14 ± 1,095 ^A
4 - SPCI	52,76 ± 1,501 ^A	66,14 ± 1,501 ^A	33,81 ± 1,095 ^A	27,84 ± 1,095 ^A

CPSI = com processador de grãos e sem inoculante; SPSI = sem processador de grãos e sem inoculante; CPCI= com processador de grãos e com inoculante; SPCI= sem processador de grãos e com inoculante. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste PDIFF a 5% de probabilidade.

Ao se fazer uma média geral dos valores de DIVMS (%) (de todos os tratamentos), as amostras colhidas no tempo de 24 horas apresentaram média de 46,74% onde apenas os tratamentos 1 (CPSI) e 4 (SPCI) estiveram acima deste valor, ou seja, com 46,74% e 52,76% respectivamente. Já no tempo de 48 horas, observou-se média de 61,90% nos tratamentos 3 (CPSI) e 4 (SPCI) estiveram acima, com 63,04% e 66,14% respectivamente. O tratamento 4 (SPCI) foi o único que se manteve acima da média nos dois tempos de fermentação.

Ao se comparar os valores dos tratamentos nos dois tempos com ou sem a adição de inoculante, o que apresentou maior DIVMS foi o com a adição de inoculante (SPCI) e menor DIVMS sem o uso de inoculante (CPSI). O que induz afirmar que o uso de inoculante na silagem pode melhorar a digestibilidade da MS. Guim et al. (1995), Patterson (1993, *apud* Woolford (1999) e Salvo et al. (2013) relataram melhoras na digestibilidade das silagens com o uso de inoculantes. Contrário à Sanderson (1993), Morais et al. (1996) e Rodrigues et al. (2002) que não relataram efeito da utilização de inoculantes na silagem e à Rabelo et al. (2018) que relataram diminuição na DIVMS com o uso de inoculante.

As amostras avaliadas no tempo de 24h, a DIVMS utilizando o processador de grãos com a adição ou não de inoculante apresentaram os mesmos valores. Entretanto, no tempo de 48h, a adição de inoculante propiciou maior valor de digestibilidade.

Em relação à DIVFDN, os valores entre os tratamentos não diferem estatisticamente, isso ocorreu nos dois tempos (24h e 48h). A digestibilidade da FDN é um parâmetro importante na qualidade do alimento volumoso, pois há grande variação em sua degradabilidade ruminal, estando relacionada com a fração potencialmente digestível e da taxa de digestão ou passagem (Silva & Bernardes, 2004), o que influencia de forma direta o desempenho animal (Perez, 2000).

Na Tabela 6 encontram-se os resultados da produção de gás em mL/g de matéria orgânica (PGMO) e em mL/g de matéria seca (PGMS), produção relativa a 48h (PR48h) e a taxa de produção por hora (TPh) em 3, 6, 9, 12, 24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho. Os dados referentes a produção de gás em relação a quantidade de matéria orgânica, podem ser visualizados nas Figura 1.

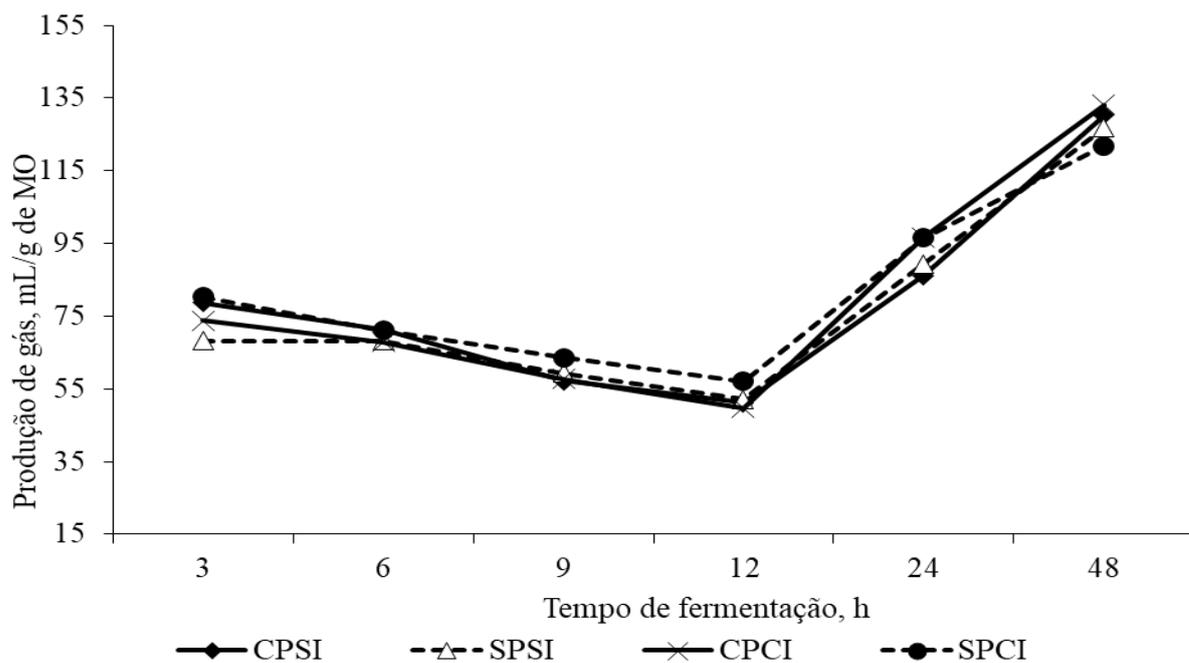


Figura 1. Produção de gás em mL/g de matéria orgânica (MO) em 48 horas de fermentação de silagem de milho dos seguintes tratamentos: 1- com processador de grãos e sem inoculante (CPSI); 2 - sem processador de grãos e sem inoculante (SPSI); 3 - com processador de grãos e com inoculante (CPCI); 4 - sem processador de grãos e com inoculante (SPCI).

Tabela 6. Produção de gás em mL/g de matéria orgânica (PGMO) e em mL/g de matéria seca (PGMS), produção relativa a 48h (PR48h), e taxa de produção por hora (TPh) em 3,6,9,12,24 e 48 horas de fermentação de silagem de milho.

Tratamento / Silagem	Tempo	PGMS	PGMO	PR48h	TPh
1 - CPSI	3	38,10 ± 1,660 ^A	78,66 ± 3,426 ^A	0,604 ± 0,025 ^{AB}	12,70 ± 0,297 ^{AB}
2 - SPSI	3	33,04 ± 1,660 ^B	68,20 ± 3,426 ^B	0,538 ± 0,025 ^B	11,01 ± 0,297 ^C
3 - CPCI	3	35,76 ± 1,660 ^{AB}	73,82 ± 3,426 ^{AB}	0,552 ± 0,025 ^B	11,92 ± 0,297 ^B
4 - SPCI	3	38,90 ± 1,660 ^A	80,30 ± 3,426 ^A	0,665 ± 0,025 ^A	12,97 ± 0,297 ^A
1 - CPSI	6	34,49 ± 1,660 ^A	71,19 ± 3,426 ^A	0,548 ± 0,025 ^{AB}	5,75 ± 0,297 ^A
2 - SPSI	6	33,05 ± 1,660 ^A	68,23 ± 3,426 ^A	0,538 ± 0,025 ^{AB}	5,51 ± 0,297 ^A
3 - CPCI	6	32,91 ± 1,660 ^A	67,94 ± 3,426 ^A	0,507 ± 0,025 ^B	5,49 ± 0,297 ^A
4 - SPCI	6	34,44 ± 1,660 ^A	71,09 ± 3,426 ^A	0,588 ± 0,025 ^A	5,74 ± 0,297 ^A
1 - CPSI	9	27,74 ± 1,660 ^A	57,27 ± 3,426 ^A	0,442 ± 0,025 ^B	3,08 ± 0,297 ^A
2 - SPSI	9	28,69 ± 1,660 ^A	59,23 ± 3,426 ^A	0,467 ± 0,025 ^{AB}	3,19 ± 0,297 ^A
3 - CPCI	9	27,91 ± 1,660 ^A	57,61 ± 3,426 ^A	0,431 ± 0,025 ^B	3,10 ± 0,297 ^A
4 - SPCI	9	30,80 ± 1,660 ^A	63,58 ± 3,426 ^A	0,525 ± 0,025 ^A	3,42 ± 0,297 ^A
1 - CPSI	12	24,76 ± 1,660 ^A	51,12 ± 3,426 ^A	0,393 ± 0,025 ^B	2,06 ± 0,297 ^A
2 - SPSI	12	25,24 ± 1,660 ^A	52,10 ± 3,426 ^A	0,411 ± 0,025 ^{AB}	2,10 ± 0,297 ^A
3 - CPCI	12	24,07 ± 1,660 ^A	49,69 ± 3,426 ^A	0,373 ± 0,025 ^B	2,01 ± 0,297 ^A
4 - SPCI	12	27,64 ± 1,660 ^A	57,06 ± 3,426 ^A	0,477 ± 0,025 ^A	2,30 ± 0,297 ^A
1 - CPSI	24	41,78 ± 1,660 ^B	86,24 ± 3,426 ^B	0,659 ± 0,025 ^C	1,74 ± 0,297 ^A
2 - SPSI	24	43,27 ± 1,660 ^{AB}	89,33 ± 3,426 ^{AB}	0,703 ± 0,025 ^{BC}	1,80 ± 0,297 ^A
3 - CPCI	24	46,87 ± 1,660 ^A	96,76 ± 3,426 ^A	0,729 ± 0,025 ^B	1,95 ± 0,297 ^A
4 - SPCI	24	46,76 ± 1,660 ^A	96,53 ± 3,426 ^A	0,802 ± 0,025 ^A	1,95 ± 0,297 ^A
1 - CPSI	48	63,10 ± 1,660 ^{AB}	130,26 ± 3,426 ^{AB}		1,31 ± 0,297 ^A
2 - SPSI	48	61,42 ± 1,660 ^{AB}	126,79 ± 3,426 ^{AB}		1,28 ± 0,297 ^A
3 - CPCI	48	64,49 ± 1,660 ^A	133,12 ± 3,426 ^A		1,34 ± 0,297 ^A
4 - SPCI	48	59,03 ± 1,660 ^B	121,86 ± 3,426 ^B		1,23 ± 0,297 ^A

CPSI = com processador de grãos e sem inoculante; SPSI = sem processador de grãos e sem inoculante; CPCI= com processador de grãos e com inoculante; SPCI= sem processador de grãos e com inoculante. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste PDIFF a 5% de probabilidade.

As análises dos dados mostraram que no primeiro tempo de 3 horas a produção foi maior em relação ao próximo tempo de 6 horas, observando diminuição até o tempo de 12 horas. A partir das 12 horas há um aumento significativo até a fase final de 48 horas. A relação propionato/acetato, segundo Beuvinck & Spoelstra (1992), pode interferir no volume de gases produzidos, onde a maior produção de acetato favorece a produção de gases. Existe uma interação entre os ácidos graxos voláteis e o meio de cultura (tampão), em que o decréscimo no pH favorece a produção de propionato e, conseqüentemente, redução na produção de gases.

Blummel et al. (1997) relatam que substratos que produzem mais acetato (concentração maior de fibra em sua composição bromatológica) produzem maior quantidade de gases quando comparados aos substratos ricos em amido os quais proporcionam maior produção de propionato e, conseqüentemente, menor produção de gases.

As análises dos dados das Figuras 1 e 2 evidenciaram dois picos de produção de gases em todos os tratamentos. Tem-se um no tempo de 3h e outro as 48h, que segundo Maurício et al. (2003) está relacionado com a fermentação dos carboidratos solúveis (prontamente disponíveis) na fase inicial da fermentação e à fermentação dos carboidratos fibrosos posteriormente. A degradação dos carboidratos fibrosos ocorre de forma mais lenta, devido aos fatores de adesão e colonização bacteriana, bem como o teor de lignificação da parede celular (Pôssas et al. 2015).

A queda da produção de gases entre os tempos de 3h e 12h se deve ao fim dos carboidratos solúveis e amido.

As maiores taxas de produções relativas a 48h (PR48h) foram nos tempos fermentativos de 3 e 24 horas (onde apresentam diferenças estatísticas entre os tratamentos) sendo que a menor foi no tempo de 12 horas, o que se justifica os maiores e menores picos de produção de gás.

Em relação as taxas de produção por hora (TPh), estas foram maiores no primeiro tempo de 3 horas e nas horas seguintes os valores foram decrescendo.

A análise dos dados da Tabela 6 mostra que até o tempo final de 48h as produções de gases demonstraram crescimento sem indicio de estabilização, o que indica que 48h não foram suficientes para a degradação de todos os nutrientes disponíveis e degradáveis.

No tempo de 3h, o tratamento CPSI apresentou maior produção de gás de MS e MO comparado com o tratamento SPSI. Isto indica que o uso do acessório processador de grãos possibilitou maiores danificações no pericarpo, rompendo a barreira física entre o meio externo e o endosperma dos grãos (Marafon, 2013) e assim permitindo maior contato dos microrganismos fermentadores com os carboidratos de reserva (Neumann et al., 2002), com isso aumentando a fermentação e produção de gás.

Observa-se que as produções de gases avaliadas em relação a MO foram superiores às observadas com base na MS, uma vez que a produção cumulativa de gases oriundos da MS computa cinzas, fração que não contribuem para a produção de gases (Pereira et al., 2005).

Na tabela 7 é apresentado a produção de gás total em mL/g de matéria orgânica (PGMO) e em mL/g de matéria seca (PGMS), em 48 horas de fermentação de silagem de

milho. A PGMS não diferenciou estaticamente entre os tratamentos, o mesmo aconteceu com PGMO.

Tabela 7. Produção de gás total em mL/g de matéria orgânica (PGMO) e em mL/g de matéria seca (PGMS), em 48 horas de fermentação de silagem de milho.

Tratamento / Silagem	PGMS	PGMO
1 - CPSI	230 ± 11,73 ^A	475 ± 24,21 ^A
2 - SPSI	225 ± 11,73 ^A	464 ± 24,21 ^A
3 - CPCI	232 ± 11,73 ^A	479 ± 24,21 ^A
4 - SPCI	238 ± 11,73 ^A	490 ± 24,21 ^A

CPSI = com processador de grãos e sem inoculante; SPSI = sem processador de grãos e sem inoculante; CPCI= com processador de grãos e com inoculante; SPCI= sem processador de grãos e com inoculante. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste PDIFF a 5% de probabilidade.

Apesar de não haver diferenças estatísticas na fermentação da MS e MO total, observaram-se diferenças nos tempos 3, 24 e 48h de avaliações. Especificamente no tempo 3 observou-se que os tratamentos SPSI apresentou menores valores tanto na PGMS e PGMO, quanto na taxa de produção por hora (TPh), observou-se também no tempo 24h maior produção dos tratamentos CPCI e SPCI. Esses maiores valores de fermentação observada nos tratamentos cujas silagens foram inoculadas pode ser relacionado com a melhor conservação da forragem devido ao uso de inoculantes, uma vez que o mesmo possui o objetivo de minimizar as perdas decorrentes da ensilagem, otimizar o processo fermentativo, reduzir a deterioração aeróbia e aumentar o valor nutritivo (Harrison & Blauwiekel, 1994).

8. CONCLUSÃO

A utilização de inoculante propiciou maiores valores de digestibilidade de MS nos dois tempos avaliados.

A digestibilidade da FDN foi igual nas silagens avaliadas.

De modo geral, a utilização do processador de grãos não afetou a produção de gás, exceto nos tempos 3h e 48h e afetou a DIVMS nos tempos avaliados (24h e 48h).

9. REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. **Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber.** J. Dairy Sei., V. 80, p. 1447- 1462, 1997.
- ARAÚJO, R. C. **Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro.** 2010. 178 f. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- ARMENTANO, L.; PEREIRA, M. **Measuring the effectiveness of fiber by animal response trials.** J. Dairy Sei., V. 80, p. 1416-1425, 1997.
- BASSO, F C. et al. **Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*.** Revista Brasileira de Zootecnia (Online)., v.41, p.1789 - 1794, 2012.
- BASSO, F C. et al. **Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs.** Journal of Animal Science. , v.92, p.5640 - 5650, 2014.
- BASSO, F. C. et al. **Effects of *Lactobacillus buchneri* NCIMB 40788 and forage: Concentrate ratio on the growth performance of finishing feedlot lambs fed maize silage.** ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY. , v.244, p.104 - 115, 2018.
- BELEOSOFF, B. S. **Potencial de produção de gases totais e metano *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes manejos de pastejo.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 145 p. Tese de Doutorado.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes.** BERCHIELLI, T.T. et. Editores. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.
- BEUVINK, J.M.W.; SPOELSTRA, S.F. **Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms in vitro.** Applied Microbiology and Biotechnology, v.37, p.505-509, 1992.
- BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. **In vitro gas production: a technique revisited.** J. Anim. Physiol. Nutr., v.77, p.24-34, 1997.
- CABRAL, L.S. **Avaliação de alimentos para ruminantes por intermédio de métodos *in vivo* e *in vitro*.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 137p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- CARR, F. J.; CHILL, D. ; MAIDA, N. **The acid lactic bacteria: A literature survey.** Critical Reviews in Microbiology. v. 28, n. 4, 2002.
- CHAMPION M. **Limagrain, a Research Leader in Maize Silage.** In: 14° INTERNATIONAL SYMPOSIUM FORAGE CONSERVATION, 2010; Brno. Anais...224p. ISBN 978-80-7375-386-3, Brno Czech Republic, 2010.
- CRUZ, José Carlos et al. **Cultivares de milho para silagem.** Viçosa: Congresso Nacional do Estudantes de Zootecnia, p.108-109, 1998.
- CRUZ, José Carlos et al. **Efeito do teor de matéria seca, na ocasião da colheita, na quantidade e na qualidade da silagem.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009.
- DI MARCO, O.N.; AELLO, M.S.; NOMDEDEU, M.; VAN HOUTTE, S. **Effect of maize crop maturity on silage chemical composition and digestibility (*in vivo*, *in situ* and *in vitro*).** Animal Feed Science and Technology, Amsterdam, v.99, n.3, p.37-43, 2002.

- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. **Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability.** Journal of Applied Microbiology, v.87, p.583-594, 1999.
- FERREIRA, J.J. **Estágio de maturação ideal para ensilagem do milho e sorgo.** In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; RODRIGUES, J.A.S.; FERREIRA, J.J. (Eds.) **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 405-428, 2001.
- FILYA, I; ASHBELLB, G.; HENB, Y.; WEINBERG, Z.G. **The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage.** Anim. Feed Sci. Technol., 88: 39-46. 2000.
- FIRKINS, L. F. **Effects of feeding nonforage fiber sources on site of fiber digestion.** J. Dairy Sei., v. 80, n. 7, p. 1426-1437, 1997.
- FOX, D. G. et al. **A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy.** J. Anim. Sei., v. 70, p. 3578-3596, 1992.
- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis: apparatus reagents, procedures and some applications.** Washington, DC: USDA, 1970. 20 p. (Agricultural Handbook 379).
- GUIM, A., ANDRADE, P.; MALHEIROS, E. B. **Efeito de inoculante microbiano sobre o consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente de silagens de milho (*Zea mays L.*).** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.24, n.6, p.1045-1053, nov./dez. 1995.
- HARRISON, J.H.; BLAUWIEKEL, R. **Fermentation and utilization of grass silage.** Journal of Dairy Science, v.77, n.10, p.3209-3235, 1994.
- HOFFMAN, P.C. et al. **Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn.** Journal of Dairy Science, v. 94, n. 5, p. 2465-2474, 2011.
- HU, W. et al. **The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents.** Journal of Dairy Science, v. 92, p. 3907-3914, 2009.
- JANSSEN, P.H. **Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics.** Animal Feed Science and Technology, v.160, p.1-22, 2010.
- JOHNSON, L. et al. **Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: a contemporary review.** Champaign: Journal of Dairy Science, v.82, p.2813-2825. 1999.
- KLEINSCHMIT, D.H.; KUNG, Jr., L. **The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the fermentation of corn silage during various stages of ensiling.** Journal of Dairy Science, v. 89, p. 3999-4004, 2006.
- KONONOFF, P. J. **The effect of ration particle size on dairy cows in early lactation.** 2002. 139 p., (unpublished PhD Thesis, The Pennsylvania State University).
- KOZLOSKI, G. B. **Bioquímica dos ruminantes.** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 139p. 2002.
- LARA, E. C. et al. **Changes in the nutritive value and aerobic stability of corn silages inoculated with *Bacillus subtilis* alone or combined with *Lactobacillus plantarum*.** Animal Production Science (Print). , v.1, p.1 - , 2015.

- LARA, E. C. et al. **Inoculation of corn silage with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* associated with amylolytic enzyme supply at feeding. 1. Feed intake, apparent digestibility, and microbial protein synthesis in wethers.** ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY. , v.243, p.22 - 34, 2018.
- LEMOS, B. J. M. **Avaliação da digestibilidade in vitro de alimentos para ruminantes.** In: Seminários aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. (Mestrado) Goiânia. 2011.
- LIMA, M. L. M. **Padrão de Fermentação Ruminal de Bovinos Recebendo Produto Homeopático.** Ciência Animal Brasileira, v. 9, n. 4, p. 969-975, 2008.
- LOPEZ, F. C. F. et al. **Fibra efetiva para vacas em lactação.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. 2006. 50p.
- LUGÃO, S.M.B.; BETT, V.; MORO, V.; LANÇANOVA, J.A.C. **Silagem de milho de planta inteira.** In: KIYOTA, N.; VIEIRA, J.A.N.; YAGI, R. & LUGÃO, S.M.B. **Silagem de milho na atividade leiteira do sudoeste do Paraná: do manejo do solo e de seus nutrientes à ensilagem de planta inteira e grãos úmidos.** Londrina: IAPAR, p.47-42, 2011.
- MAHANNA, W. C. **Silage fermentation and additive use in North America.** In: Silage Production from Seed to Animal. Proceedings of the National Silage Production Conference, Syracuse, New York. pp. 85-95. 1993.
- MAURICIO, R.M. et al. **A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation.** Animal Feed Science and Technology. v. 79, p. 321–330, 1999.
- MAURÍCIO, R. M. et al. **Potencial da técnica in vitro semiautomática de produção de gases para a avaliação de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.). Moench. Ver. Bras. Zootecn, 32: 1013-1020, 2003.**
- MARAFON, Fabiano. **Efeito da colheita da planta de milho em diferentes estádios reprodutivos e do processamento do grão sobre a qualidade da silagem.** Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2013.
- McALLISTER, K. A. et al. **Genetic heterogeneity in hereditary hemorrhagic telangiectasia: possible correlation with clinical phenotype.** J. Med Genet, v. 31, p. 927-932, 1994.
- McDONALD, P., HENDERSON, A.R.; HERON, S. **The biochemistry of silage.** 2ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340p.
- MORAIS, J.P.G., BOIN, C., CAMPOS, F.P., et al. **Efeito de inoculante bacteriano em silagem de milho quanto a digestibilidade in vivo e fermentação.** In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza. Anais... Fortaleza: SBZ, 1996, p.425-427.
- MOREIRA, Paulo César et al. **Produção cumulativa de gases e parâmetros de France avaliados pela técnica semiautomática in vitro de fontes de carboidratos de ruminantes.** Rev. Bras. Saúde Prod. An., v.11, n.2, p. 452-462 abr/jun, 2010.
- MORGAVI, D.P., KELLY, W.J., JANSSEN, P.H.; ATTWOOD, G.T. **Rumen microbial (meta)genomics and its application to ruminant production.** Animal 7 (Suppl. 1), p. 184–201, 2013.
- NAVARRO-VILLA, A.; O'BRIEN, M.O.; LÓPEZ, S. et al. **Modifications of a gas production technique for assessing in vitro rumen methane production from feedstuffs.** Animal Feeds Science and Technology, v.166-167, p.163-174, 2011.

- NEUMANN, M. et al. **Avaliação de diferentes híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench) quanto aos componentes da planta e silagens produzidas.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.31(S), n.1, p.302-312, 2002.
- NEUMANN, M. **Efeito do Tamanho de Partícula e da Altura de Colheita das Plantas de Milho (*Zea mayz* L.) Sobre Perdas, Valor Nutritivo de Silagens e Desempenho de Novilhos Confinados.** 223p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2006.
- NOGUEIRA, U.T.; MAURÍCIO, R.M.; GONÇALVES, L.C. **Comparação de substratos com diferentes quantidades de carboidratos solúveis utilizando a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.58, p.901-909, 2006.
- NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; DIAS, F.N. **Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho.** In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2001, Maringá. Anais...Maringá: UEM, 2001.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle.** 7. ed. Washington: National Academy Press, 2001. 333 p.
- OLIVEIRA, Pérsio Sander d.; OLIVEIRA, Jackson Silva. **Produção de silagem de milho para suplementação do rebanho leiteiro.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2014.
- ØRSKOV, E.R. 1988. **Nutrición proteica de los ruminantes.** Acribia. Zaragoza. 178 pp.
- PEREIRA, L. G. R. et al. **Avaliação das silagens de girassol (híbrido m734) obtidas em diferentes épocas de ensilagem pela técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases.** Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v. 42, n. 4, p. 276-283, 2005.
- PERES, J.R. **Importância da digestibilidade da fibra das forragens.** 2000. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/nutricao/importancia-da-digestibilidade-da-fibra-das-forragens-15837n.aspx>>. Acesso em: 19/11/2018.
- PITT, R.E. **Silage and hay preservation.** Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Ithaca, New York. 1990.
- RABELO, C. H. S. et al. **Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant and as a probiotic on feed intake, apparent digestibility and ruminal fermentation and microbiology in wethers fed low-dry-matter whole-crop maize silage.** GRASS AND FORAGE SCIENCE., v.1, p.1 - 11, 2017.
- RABELO, C. H. S. et al. **Meta-analysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition, and aerobic stability of sugarcane silage.** GRASS AND FORAGE SCIENCE., v.1, p.1 - , 2018.
- REIS, R. A.; ROSA, B. **Suplementação volumosa: conservação do excedente das pastagens.** In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 18., 2001, Piracicaba. Anais...Piracicaba, SP: FEALQ, 2001. P. 193-232.
- REIS, R.A et al. 2008. **Fatores que afetam o consumo de forragens conservadas.** In: C.C. Jobim, U. Cecato e M.W. do Canto (Eds.). Produção e utilização de forragens conservadas. Masson, Maringá, PR. pp. 9-40.
- RODRIGUES, P. H. M. et al. **Valor nutritivo da silagem de milho sob o efeito da inoculação de bactéria ácido-lácticas.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.31, n.6, p.2380-2385, 2002.

- RODRIGUES et al. **Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho.** R. Bras. Zootec., v.33, n.3, p.538-545, 2004.
- ROOKE, J. A. **The effect of increasing acidity or osmolality of grass silage by addition of free or partially neutralized lactic acid on silage intake by sheep and upon osmolality and acid-base balance.** Animal Science. 61:285-292. 1995.
- SALVO, P. A. R. et al. **Características de silagens de milho inoculadas com *Lactobacillus buchneri* e *L. plantarum*.** Archivos de Zootecnia. , v.62, p.1 - 12, 2013.
- SANDERSON, M. **Aerobic stability and in vitro fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages.** Journal of Dairy Science, Savoy, v.71, p.505-514, 1993.
- SANTOS, A. D. **Desempenho de bovinos em pastos de capim-braquiária suplementados nos períodos de água e seca.** Tese (Doutorado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.
- SENGER, C.C.D.; MÜHLBACH, P.R.F.; BONNECARRÈRE SANCHEZ, L.M.; NETO, D.P.; LIMA, L.D. **Composição e digestibilidade 'in vitro' de silagens de milho com distintos teores de umidade e níveis de compactação.** Ciência Rural, Santa Maria, v.35, n.6, p.1393-1399, 2005.
- SILVA, T. C. et al. **Conservação de forrageiras xerófilas.** Conservation of. Revista eletrônica de Veterinária, v.15, n.3, p.1-10, 2014.
- SILVA, Z.F.; BERNARDES, T.F. **Concentração e Digestibilidade da FDN da silagem sobre o desempenho de novilhos.** 2004. Disponível em <<http://www.milkpoint.com.br/radar-93-tecnico/conservacao-de-forragens/concentracao-e-digestibilidade-da-fdn-da-silagem-sobre-o-desempenho-de-bovinos-21211n.aspx>>. Acessado em 19/11/2018.
- SILVEIRA, M. F. **Comparação de métodos *in vivo* e laboratoriais para estimar o valor nutritivo de dietas para bovinos de corte.** Santa Maria, 2006. Dissertação(Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, 2006.
- SOUZA FILHO, A.X. et al. **Influence of stage of maturity on bromatological quality of corn forage.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.40, n.9, p.1894-1901, 2011.
- SCHOFIELD, P., PITT, R.E.; PELL, A.N. **Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas-production.** Journal of Animal Science. v. 72, p. 2980–2991, 1994.
- TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. **A two stages technique for the “in vitro” digestion of forage crops.** Journal of British Grassland Society, v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- THEODOROU, M.K. et al. **A simple gas-production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds.** Animal Feed Science and Technology. v. 48, p. 185–197, 1994.
- THOMIC, Thierry Ribeiro. **Características químicas para avaliação de processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação.** Corumbá: Embrapa Pantanal, p.10, 2003.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant.** 2. ed. New York: Cornell University, 1994. 476p.
- WEINBERG, Z.G. et al. **The effect of a propionic acid bacterial inoculant applied at ensiling, with or without lactic acid bacteria, on the aerobic stability of pearl millet and maize silages.** Journal of Applied Bacteriology, v. 78, p. 430–436, 1995.

- WEISS, W. P. **Dietary fiber requirements of dairy cattle explored.** Feedstuffs, v. 65, n. 46, p. 14-17, 1993.
- WEISS, W.P., CHAMBERLAIN, D.G., HUNT, C.W. **Feeding silages.** In: Silage Science and Technology. Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Ed.). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science of America. Madison, Wisconsin. 469-504. 2003.
- WILLIAMS, W. L. et al. **Evaluation of in vitro gas production and rumen bacterial populations fermenting corn milling (co) products.** Journal of dairy science, v. 93, n. 10, p. 4735-4743, 2010.
- WOOLFORD, M. **Ciência e tecnologia na produção de silagem.** Kentucky: Alltech Biotechnology Center, 1999.