



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

SILAGEM DE DIETA TOTAL PARA VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

HAYNE MAYUMI CARIOLANO ARAKI

DOURADOS-MS

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

SILAGEM DE DIETA TOTAL PARA VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

HAYNE MAYUMI CARIOLANO ARAKI

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia – Área de  
Concentração: Produção Animal,  
como parte das exigências para  
obtenção do título de Mestre em  
Zootecnia

DOURADOS-MS

2020

# SILAGEM DE DIETA TOTAL PARA VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

por

**HAYNE MAYUMI CARIOLANO ARAKI**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA

Aprovado em: 22/05/2020



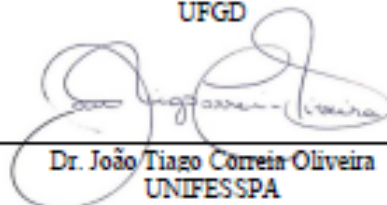
---

Dr. Jefferson Rodrigues Gandra  
Orientador – UNIFESSPA



---

Dra. Alzira Gabriela da Silva Pause  
UFGD



---

Dr. João Tiago Correia Oliveira  
UNIFESSPA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A659s Araki, Hayne Mayumi Cariolano

SILAGEM DE DIETA TOTAL PARA VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO [recurso eletrônico] / Hayne Mayumi Cariolano Araki. -- 2020.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Jefferson Rodrigues Gandra.

Coorientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Alimentação. 2. Bovinos leiteiros. 3. Ácidos orgânicos. 4. Inoculante microbiano. I. Gandra, Jefferson Rodrigues. II. Goes, Rafael Henrique De Tonissi E Buschinelli De. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

*“...The woods are lovely, dark and deep,  
But I have promises to keep,  
And miles to go before I sleep,  
And miles to go before I sleep.”*  
*(Robert Frost)*

*Dedico a finalização desse ciclo à  
minha família e ao  
meu tio de coração,  
Humberto (in memoriam).*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus pela vida, saúde e pela força para concluir essa jornada.

Aos meus queridos pais pelo amor incondicional, o suporte emocional e financeiro, pelos conselhos, por acreditar em minhas decisões e objetivos. Aos meus irmãos pelo suporte fornecido e pelos conselhos durante essa jornada.

Ao meu orientador Dr. Jefferson Rodrigues Gandra pelos ensinamentos, pela confiança, pela atenção, amizade e, principalmente, pela paciência durante essa jornada turbulenta.

Ao meu coorientador Dr. Rafael Henrique de T. B. de Goes pelo aprendizado, pelo suporte, pelas risadas e pelas balas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação pelos ensinamentos.

As pessoas que compõem o grupo de pesquisa que me ajudaram durante o experimento.

Aos meus queridos amigos, Raquel, Nayara, Douglas e Paola pela amizade, carinho e pelo ombro amigo em que as lágrimas caíram durante os percalços dessa jornada.

Aos amigos que, mesmo com a distância, sempre estiveram presentes me apoiando, incentivando e dando forças.

A CAPES pelo financiamento do trabalho.

A Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade de crescimento acadêmico.

Agradeço à todas pessoas que me ajudaram diretamente ou indiretamente durante esse processo.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

**Hayne Mayumi Cariolano Araki**, filha de Heliana Cariolano da Silva e Antonio Hideo Araki, nascida em 17 de maio de 1994 na cidade de São Paulo-SP. Concluiu o ensino médio em 2011 e em 2012 ingressou no curso de graduação de Zootecnia pela Universidade Federal da Grande Dourados, concluindo o curso em 2017. Em 2018, iniciou as atividades como aluna no curso de mestrado no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados onde foi bolsista da CAPES por um ano.



## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I Considerações Iniciais

CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	19
1. REVISÃO DE LITERATURA .....	19
1.1. Silagem de dieta total .....	19
1.2. Inoculante microbiano .....	21
1.3. Ácidos orgânicos .....	22
2. HIPÓTESE .....	23
3. OBJETIVOS .....	24
3.1. Objetivo geral .....	24
3.2. Objetivos específicos .....	24
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
1. INTRODUÇÃO .....	30
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	30
2.1. Preparo da silagem .....	30
2.2. Perdas fermentativas .....	31
2.3. Estabilidade aeróbia .....	32
2.4. Valor nutricional .....	33
2.5. Análise microbiológica .....	33
2.6. Perfil fermentativo .....	34
2.7. Análises estatísticas .....	34
3. RESULTADOS .....	35
3.1. Perdas fermentativas .....	35
3.2. Estabilidade aeróbia .....	37
3.3. Valor nutricional .....	41

3.4. Perfil fermentativo.....	43
3.5. Perfil microbiológico.....	45
4. DISCUSSÃO.....	47
4.1. Perdas fermentativas.....	47
4.2. Estabilidade aeróbia.....	47
4.3. Valor nutricional.....	48
4.4. Perfil fermentativo.....	49
4.5. Perfil microbiológico.....	50
5. CONCLUSÃO.....	50
6. REFERÊNCIAS.....	51
1. INTRODUÇÃO.....	57
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
2.1. Animais e dieta.....	58
2.2. Análises bromatológicas.....	59
2.3. Consumo e digestibilidade.....	60
2.4. Produção e composição do leite.....	60
2.5. Análises estatísticas.....	61
3. RESULTADOS.....	61
3.1. Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes.....	61
3.2. Produção e composição do leite.....	62
4. RESULTADOS.....	63
4.1. Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes.....	63
4.2. Produção e composição do leite.....	64
5. CONCLUSÃO.....	64
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Composição nutricional dos silos experimentais no momento da ensilagem.....	31
<b>Tabela 2.</b> Perdas fermentativas de acordo com as dietas experimentais. ....	36
<b>Tabela 3.</b> Valor nutricional de acordo com as silagens de ração em mistura total.....	42
<b>Tabela 4.</b> Perfil fermentativo de acordo com as silagens de ração em mistura total.....	44
<b>Tabela 5.</b> Perfil microbiológico de acordo com as silagens de ração em mistura total.....	46
<b>Tabela 6.</b> Composição nutricional da dieta. ....	59
<b>Tabela 7.</b> Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais.....	62
<b>Tabela 8.</b> Produção e composição de leite de acordo com as dietas.....	63

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figure 1.</b> Variação da diferença de temperatura (°C) da silagem e do ambiente em relação ao tempo de exposição ao oxigênio dos silos experimentais. ....	38
<b>Figure 2.</b> Teores de MS no tempo de exposição ao oxigênio dos silos experimentais.....	39
<b>Figure 3.</b> Concentração de pH no período de exposição de oxigênio dos materiais ensilados. ....	40

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AGCR- Ácidos graxos de cadeia ramificada

BAL- Bactérias ácido lácticas

CNF- Carboidratos não fibrosos

EE- Extrato etéreo

EL – Energia líquida

FDA- Fibra em detergente ácido

FDN- Fibra em detergente neutro

g- gramas

Kg- Quilogramas

LP – *Lactobacillus plantarum*

MM- Matéria mineral

MN- Matéria natural

MS- Matéria seca

MO- Matéria orgânica

NDT- Nutrientes digestíveis totais

PB- Proteína bruta

PL – Produção de leite

PLC – Produção de leite corrigida

RVC- Relação volumoso:concentrado

TMR – dieta total

Ton- Tonelada

UFC- Unidade formadora de colônia

## RESUMO

ARAKI, Hayne Mayumi Cariolano. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- MS, março de 2020. **Silagem de dieta total para vacas em lactação.** Orientador: Dr. Jefferson Rodrigues Gandra. Coorientador: Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.

Na busca de novas técnicas para aprimorar a qualidade a silagem de dieta total surge como uma alternativa de preparação de silagem em que todos os ingredientes são ensilados ao mesmo tempo e depois fornecidos aos animais de forma homogênea, assim, evitando a seleção dos alimentos. Deste modo, os objetivos do trabalho foram, primeiro, avaliar a melhor RVC da silagem de TMR com ou sem adição de inoculante microbiano e, segundo, avaliar os parâmetros produtivos de vacas leiteiras em lactação alimentadas com a melhor RVC com inclusão de ácidos orgânicos. No primeiro experimento foram utilizados 60 silos experimentais onde os tratamentos foram compostos de inclusão de dois níveis de inoculantes bacterianos (*Lactobacillus plantarum*:  $4 \times 10^{10}$  UFC  $g^{-1}$  + *Pediococcus acidilactici*:  $4 \times 10^{10}$  UFC  $g^{-1}$ ) e três relações de volumoso: concentrado (60:40; 50:50 e 40:60). Os silos foram abertos em 60 dias de armazenamento. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC MIXED do SAS 9.4. Não houve efeito de inoculantes para perdas de gases, efluentes, totais e recuperação da MS, entretante, houve efeito de RVC para perdas por efluentes, gases, totais e recuperação de MS. Os tratamentos experimentais aditivados de inoculante bacteriano não apresentaram perdas da estabilidade aeróbica no período avaliado, tiveram menores valores de pH, MS, MO, CNF e tiveram maiores teores de PB, EE e amido. A inclusão de inoculante bacteriano mostram menores concentrações de N-NH<sub>3</sub> e maiores concentrações de etanol, propionato, lactato, AGCR e ácidos graxos totais. A adição de inoculante aumentou a contagem de bactérias anaeróbicas e aeróbicas e reduziu a contagem de fungos. Conclui-se que a RVC 50:50 é ideal para a confecção de silagem de dieta total. No segundo experimento, foram utilizadas seis vacas da raça Jersey com peso corporal médio de 400 kg, dias em lactação de 100 dias e produção de leite corrigida de 20 kg dia<sup>-1</sup>. As dietas experimentais foram: 1- controle (silagem de milho + concentrado); 2- silagem de TMR (silagem de dieta total); 3- silagem de TMR + ácido orgânico (silagem de dieta total + 2 ml  $kg^{-1}$  de MN de ProMyr™ TMR Performance, 50- 60% de ácido propiônico; 15- 20% de ácido fórmico; 1- 5% de propionato de sódio; 1- 5% de propionato de glicerol; 15- 25% de glicerol). Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC MIXED do SAS 9.4. Os animais que receberam silagem de dieta total apresentaram menor consumo de MS, MO, amido e FDN e não foi observado diferenças para os animais que receberam silagem de dieta total com e/ou sem adição de ácidos

orgânicos. As silagens de dieta total influenciaram negativamente a digestibilidade da PB e amido. Os animais alimentados com silagem de dieta total apresentaram menor produção de leite e corrigida em relação ao controle, porém vacas suplementadas com ácidos orgânicos na silagem de dieta total apresentaram maior produção de leite e corrigida em relação as não suplementadas. Ressalva-se que seja necessário mais estudos científicos para a utilização da silagem de dieta total em gados leiteiros.

**Palavras-chaves:** alimentação, bovinos leiteiros, ácidos orgânicos, inoculante microbiano

## ABSTRACT

ARAKI, Hayne Mayumi Cariolano. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- MS, March, 2020. **Total mixed ration silage for lactating cows**. Advisor: Dr. Jefferson Rodrigues Gandra. Co-supervisor: Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.

In the search for new techniques to improve quality and low cost, TMR silage appears as an alternative to silage preparation in which all ingredients are ensiled at the same time and then homogeneously supplied to the animals, thus avoiding food selection. Thus, the objectives of the work were, first, to evaluate the best RVC of the TMR silage with or without the addition of microbial inoculant and, second, to evaluate the productive parameters of lactating dairy cows fed with the best RVC with inclusion of organic acids. In the first experiment, 60 experimental silos were used where the treatments consisted of including 2 levels of bacterial inoculants (*Lactobacillus plantarum*:  $4 \times 10^{10}$  cfu / g + *Pediococcus acidilactici*:  $4 \times 10^{10}$  cfu / g) and 3 ratios of roughage: concentrate (60:40; 50:50 and 40:60). The silos were opened in 60 days of storage. The data were submitted to analysis of variance using the PROC MIXED of SAS 9.4. There was no effect of inoculants for losses of gases, effluents, totals and recovery of DM, however, there was an effect of RVC for losses by effluents, gases, totals and recovery of DM. The experimental treatments added with bacterial inoculant did not present losses of aerobic stability in the evaluated period, had lower values of pH, MS, MO, CNF and had higher contents of PB, EE and starch. The inclusion of bacterial inoculants shows lower concentrations of N-NH<sub>3</sub> and higher concentrations of ethanol, propionate, lactate, AGCR and total fatty acids. The addition of inoculant increased the count of anaerobic and aerobic bacteria and reduced the count of fungi and molds. We conclude that RVC 50:50 is ideal for making total mixed feed silage. In the second experiment, six Jersey cows with an average body weight of 400 kg, days in lactation of 100 days and corrected milk production of 20 kg / day were used. The experimental diets were: 1- control (corn silage + concentrate); 2- TMR silage (total mixed feed silage); 3- TMR silage + organic acid (total mix feed silage + 2ml per kg of ProMyr™ TMR Performance MN, 50- 60% propionic acid; 15- 20% formic acid; 1- 5% propionate sodium; 1- 5% glycerol propionate; 15- 25% glycerol). The data were submitted to analysis of variance using the PROC MIXED of SAS 9.4. The animals that received total diet silage showed lower consumption of DM, MO, starch and NDF and no differences were observed for the animals that received total diet silage with and / or without the addition of organic acids. The total diet silages negatively influenced the digestibility of CP and starch. The animals fed with total diet



silage showed less milk production and corrected in relation to the control, however cows supplemented with organic acids in the total diet silage showed higher milk production and corrected in relation to the non-supplemented ones. It should be noted that further scientific studies are necessary for the use of total diet silage in dairy cattle.

**Keywords:** feed, dairy cattle, organic acids, microbial inoculant

**CAPÍTULO I**  
Considerações Iniciais

## **CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

A silagem de dieta total (TMR) é uma técnica que foi difundida no continente asiático em que consiste em misturar e ensilar gramíneas, coprodutos e outros ingredientes para que se torne uma ração completa e homogênea (NISHINO et al., 2003<sup>a</sup>). A homogeneidade do material se destaca, principalmente, pela diminuição da seleção natural dos animais a procura de alimentos, conseguindo ser ingerida de forma completa e não acarretando em problemas na estabilidade ruminal (HOSODA et al., 2019).

A silagem quando exposta ao oxigênio, os microrganismos aeróbicos causam a deterioração e aquecimento da silagem, prejudicando a qualidade do material. Essa exposição é indesejável devido as perdas de nutrientes e aos efeitos negativos no desempenho dos ruminantes. A utilização de aditivos tem sido vantajosa por evitar a deterioração da silagem quando exposta ao oxigênio e aumentando a estabilidade aeróbica, sendo alguns deles os ácidos orgânicos e os inoculantes microbianos.

Muitos estudos avaliaram positivamente a utilização de inoculantes microbianos para diminuir as perdas após a abertura dos silos, reduzir a população de leveduras e inibir a deterioração aeróbica das silagens de TMR, além de melhorar a qualidade fermentativa da silagem (NISHINO et al., 2004; LIU et al., 2016; KUNG JR, 2001; WANG e NISHINO, 2008; XU et al., 2007; HU et al., 2015).

Os ácidos orgânicos exercem papel semelhante aos inoculantes microbianos, sendo eles utilizados com a finalidade de preservação da silagem, agir como um aditivo antimicrobiano e manter a estabilidade aeróbica. (MUCK et. al., 2018). Os ácidos mais comuns são os ácidos propiônico e fórmico em que suas funcionalidades são semelhantes para aumentar a qualidade da silagem.

## **1. REVISÃO DE LITERATURA**

### **1.1. Silagem de dieta total**

Foi inventada na metade do século XX, tendo os primeiros relatórios conhecidos no Journal of Dairy Science na década de 1950. Os produtores começaram a utilizar a alimentação de ração mista total (TMR) à medida que a produção de leite aumentava (SCHINGOETHE, 2017). A silagem de TMR é um alimento alternativo feito a partir da combinação de forragens, grãos, rações proteicas, minerais, vitaminas e aditivos alimentares formulados para suprir as exigências nutricionais (NISHINO et al., 2003a). Contrariamente das silagens de culturas

usuais, esta silagem pode ser produzida em qualquer estação do ano (WANG e NISHINO, 2013).

Esse tipo de silagem começou a ser bem difundida nos países asiáticos, principalmente no Japão onde sua produção foi embasada em muitas pesquisas devido ao excesso de coprodutos que eram gerados pelas indústrias alimentícias (WANG e NISHINO, 2008), moldando a cadeia produtiva de modo sustentável pela conversão de insumos não comestíveis para humanos em comestível para os animais (SCHADER et al., 2015), e pelo aumento do custo de produção na indústria pecuária no leste da Ásia onde as fazendas dependem fortemente dos grãos importados (HA et al, 2010). A silagem pode ser fornecida em silos portáteis e distribuição em um curto espaço de tempo, dentro de um mês após a produção, por não haver espaço suficiente para o seu armazenamento (WANG e NISHINO, 2013).

As silagem de TMR tem a alta estabilidade aeróbica após a abertura do silo, sendo que a deterioração não ocorre até o sétimo dia, resistência a deterioração aeróbica mesmo com mais de  $10^6$  unidades formadoras de colônias (UFC)  $g^{-1}$  de leveduras na contagem na abertura do silo e, mesmo quando prolongada por vários meses, a contagem de leveduras cai abaixo dos níveis detectáveis, melhorando a estabilidade da silagem por causa diminuição de microrganismos indesejáveis (NISHINO et al., 2004; WANG e NISHINO, 2008).

Conforme Cao et al. (2011), dependendo das condições de ensilagem e ingredientes usados na formulação de silagem de TMR podem ser observados baixa concentração de ácido láctico, valores de pH acima de 4 ou 5, aumento da população de microrganismos. Alguns coprodutos são deficientes em nutrientes para promover o crescimento de bactérias ácido lácticas, por isso há adição de aditivos estimuladores de fermentação e fornecedores de substrato como, por exemplo, o melaço e a polpa de beterraba (NISHINO et al., 2011; YUAN et al., 2015).

Por ser flexível em relação a época de produção, a temperatura de armazenamento da silagem de TMR acompanha a temperatura do ambiente, tendo alta temperatura no verão e baixa no inverno. De acordo com as pesquisas de Wang e Nishino (2013) sobre a influência de diferentes temperaturas de armazenamento, o teor de ácido acético na silagem de TMR em condições quentes foi superior ao da silagem de TMR em condições frias, concluindo que a temperatura elevada aumenta a produção de ácido acético e a população de bactérias ácido láctico sem causar perdas expressivas durante o processo fermentativo. Em outro estudo de Wang e Nishino (2010), o teor de etanol teve uma resposta oposta.

A dieta de TMR tem sido amplamente utilizada na pecuária de leite, pois é uma alimentação de mistura homogênea e evita o comportamento classificativo do animal,

resultando em uma condição ruminal estável, reduzindo risco de acidose (HOSODA et al., 2019). Estudos de Miyaji et al. (2013) em relação a dieta formulada para vacas de alta produção ( $\pm 45$  kg de leite/dia) indicaram que ao substituírem 100% do grão de milho por arroz integral e coprodutos de soja na silagem de TMR foi uma alternativa eficiente, pois diminuiu as perdas de nitrogênio na urina, sem acarretar efeitos adversos no consumo e na produção de leite. Sakai et al. (2015) concluíram que a utilização de silagem de TMR com grãos de cerveja na alimentação de búfalos aumentou significativamente a ingestão de MS, PB e NDT, além de aumentar o peso corporal e a produção de leite.

Cao et al. (2009a) avaliaram os efeitos da silagem de TMR na digestibilidade, características de fermentação ruminal, emissões de metano e perda de energia em ovinos e concluíram que a silagem de TMR aumenta a digestibilidade dos nutrientes, diminui a emissão de metano e perdas de energia em comparação ao TMR fresca. A diminuição do metano contribui para a conversão de ácido láctico em ácido propiônico no rúmen.

Nos países asiáticos, a ensilagem de TMR é uma prática que possui pontos positivos de acordo com as características e peculiaridades desses países, porém no Brasil, existem poucos estudos científicos. Seriam necessárias mais pesquisas para avaliar a viabilidade e impacto que essa silagem teria em sua confecção e na alimentação de ruminantes.

## **1.2. Inoculante microbiano**

A utilização de inoculante microbiano em silagem tem como objetivo inibir o crescimento de microrganismos aeróbios associados com a instabilidade aeróbia e inibir o crescimento de organismos anaeróbios indesejáveis, além de adicionar bactérias benéficas para a fermentação (KUNG JR. et al., 2003). São constituídos de bactérias heterofermentativas e homofermentativas ou a combinação destas (ZOPOLLATTO et al., 2009).

Os microrganismos homofermentativos caracterizam-se pela maior concentração de ácido láctico através da conversão de glicose e frutose, alta taxa de fermentação, menores teores de ácido acético e butírico e maior teor de recuperação da matéria seca (ZOPOLLATTO et al., 2009). O aumento da população no silo tem como objetivo melhorar o processo fermentativo, intensificando a produção de ácido láctico e, assim, promover a queda do pH (MOHAMMADZADEH et al., 2012). Entretanto, silagens com predominância de bactérias homofermentativas e acúmulo de ácido láctico podem perder a estabilidade aeróbia mais rápido em função da baixa propriedade antifúngica desse ácido, além de servir como substrato para o crescimento de fungos e leveduras (ARRIOLA et. al., 2011; MOHAMMADZADEH et al., 2012).

Dentre as bactérias homofermentativas, a espécie *Lactobacillus plantarum* é a mais utilizada devido seu vigoroso crescimento, tolerância ao meio ácido e potencial elevado de produção de ácido láctico (MUCK, 2010). De acordo com Ren et al. (2020), a utilização de *Lactobacillus plantarum* preservou e diminuiu o teor de MS da silagem. A adição de LP poderia efetivamente promover a produção de ácido láctico homofermentativo e inibir a decomposição da matéria orgânica que geralmente ocorre devido à produção insuficiente de ácido láctico.

Os microrganismos heterofermentativos utilizam ácido láctico e glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos, sob baixo pH. Não são tão eficientes quanto os homofermentativos para proporcionar a redução do pH. Além disso, por causa da conversão dos carboidratos solúveis em outros produtos, eleva as perdas de matéria seca (PAHLOW et al., 2003, MUCK, 2010).

*Lactobacillus buchneri* é a BAL heterofermentativa mais utilizada devido à sua capacidade de converter ácido láctico em ácido acético em condições anaeróbicas (DRIEHUIS et al., 2001) e melhora da estabilidade aeróbica na alimentação. Nishino et al. (2004) avaliando a utilização do aditivo *Lactobacillus buchneri* em silagens de TMR ensiladas por 10 e 60 dias, concluíram que o aditivo *L. buchneri* é eficiente em diminuir as perdas após a abertura dos silos, pois diminuiu a população de leveduras e inibiu a deterioração aeróbia nas silagens de TMR quando ensilados por 60 dias.

Driehuis et al. (2001) relataram que *L. buchneri* sozinho ou em combinação com *Pediococcus pentosaceus* e *Lactobacillus plantarum* melhorou a estabilidade aeróbica da silagem de capim, reduziu a contagem de leveduras e bolores e teve menor perda de MS em comparação com a silagem não tratada.

### **1.3. Ácidos orgânicos**

Em países com clima tropical, a temperatura do ambiente influencia no aumento da temperatura da silagem o que causa à multiplicação microbiana e, conseqüentemente, em sua deterioração (ASHBELL et al., 2002). Os microrganismos indesejáveis se multiplicam rapidamente após a exposição da silagem ao ar, reduzindo o valor nutritivo da alimentação e no desempenho animal (KUNG JR., 2010). A utilização de aditivos é comum com a finalidade de melhorar a recuperação de nutrientes, prolongar a estabilidade aeróbica e, em alguns casos, melhorar o desempenho dos animais (KUNG e MUCK, 1997).

Os ácidos orgânicos têm sido utilizados na preservação de alimentos a décadas como aditivo antimicrobiano, aumentando o efeito de preservação dos alimentos fermentados. (HAQUE et al., 2012). Alguns estudos revelam que os ácidos orgânicos melhoram a conservação e estabilidade aeróbica dos alimentos, presumivelmente por causa da atividade

inibidora em microrganismos indesejáveis (MUCK et al., 2018; SANTOS et al., 2019a; SANTOS et al., 2019b). Segundo Lambert e Stratford (1999), os ácidos orgânicos podem atravessar a membrana celular liberando hidrogênio no citoplasma. A redução do pH citoplasmático e o uso do ATP para manter a homeostase celular causam inibição de microrganismos.

O ácido propiônico tem sido utilizado há muitos anos como conservante de forragens e, quando usado em altas taxas, pode melhorar a estabilidade aeróbica de alimentos fermentados. Outra característica do ácido propiônico é o efeito antimicótico quando há diminuição do pH da silagem, tornando-se um ácido desejável para melhorar a estabilidade aeróbica da silagem de milho com pH baixo (MUCK e PITT, 1994). Pitt et al. (1991) utilizaram um modelo de simulação de fermentação de silagem e estabilidade aeróbica onde previu-se que o ácido propiônico melhorou a estabilidade aeróbica mais do que a inoculação microbiana.

Kung et al. (1998, 2001) descobriram que utilizando um ácido orgânico fraco como, por exemplo, o ácido propiônico, aplicado a 0,2-0,3% do peso na forragem fresca, poderia melhorar a estabilidade da silagem de milho, porém a eficiência da fermentação foi menor. A dieta de TMR misturada com ácido propiônico mostraram menor pH e temperatura após 24 horas, sugerindo menor deterioração da ração.

O ácido fórmico adicionado a silagem induz a atividade antimicrobiana e diminui a produção de ácido láctico, sendo necessário um equilíbrio entre ele e o ácido láctico suficiente, para preservar a silagem e manter o máximo de carboidratos possíveis para obter uma silagem de alta qualidade (BOSCH et al., 1988). Em vários estudos, o ácido fórmico também melhora a fermentação microbiana (BOSCH et al., 1991). Um aditivo químico como ácido fórmico pode ser mais eficaz que um aditivo biológico, devido à rápida restrição de microrganismos indesejáveis (LIU et al., 2016).

## **2. HIPÓTESE**

A inclusão do inoculante microbiano melhora as condições fermentativas da silagem de dieta total independentemente do nível de inclusão de forragem no momento da ensilagem. A inclusão de ácidos orgânicos na silagem de dieta total melhora o desempenho produtivo de vacas em lactação.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

O objetivo geral foi estabelecer a melhor relação volumoso:concentrado em silagem de dieta total com ou sem adição de inoculante microbiano e avaliar os parâmetros produtivos de vacas leiteiras em lactação alimentadas com silagem de dieta total e inclusão de ácidos orgânicos.

#### 3.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos do experimento 1 foram avaliar as perdas fermentativas, a estabilidade aeróbica, a microbiologia, o valor nutricional, o perfil fermentativo da silagem de dieta total com adição de inoculante microbiano. No experimento 2 foram avaliar o consumo, a digestibilidade, a produção e composição do leite de vacas em lactação fornecendo a silagem de dieta total com a inclusão de ácidos orgânicos.

### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1511-1516, 2011.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HENY, A. N. D.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. **J. Ind Microbiol Biotechnol** v. 28, 261–263, 2002.

BOSCH, M. W.; LAMMERS-WEIENHOVEN, S. C. W.; BANGMA, G. A.; BOER, H. **Influence of stage maturity of grass silages on digestion processes in dairy cows**. 2. Rumen contents and ruminal passage rates, Landbouwniversiteit te Wageningen, pp. 33, 1991.

BOSCH, M. W.; JANSSEN, I. M.; VAN BRUCHEM, I.; BOER, H.; HOF, G., Digestion of alfalfa and grass silages in sheep I. Rates of fermentation in and passage from the reticulorumen. **Neth. J. Agric. Sci.** 36, 175–178, 1988.

CAO Y.; TAKAHASHI T.; HORIGUCHI K. Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. **Anim Feed Sci Technol** 151: 1–11, 2009a.

CAO Y.; CAI Y.; TAKAHASHI T.; YOSHIDA N.; TOHNO M.; UEGAKI R.; NONAKA K.; TERADA F. Effect of lactic acid bacteria inoculant and beet pulp addition on fermentation characteristics and in vitro ruminal digestion of vegetable residue silage. **Journal of Dairy Science**, 94, 3902–3912, 2011.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; VAN WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.56, n.4, p.330-343, 2001.



- HA, Y.S.; HONG, D.H.; PARK, K. K. Modelling of a small group scale TMR plant for Beef cattle and Dairy farm in Korea (II)- Performance test and cost analysis of the model plant. **J. Biosyst. Eng.** 35 (2), 91–99, 2010.
- HAQUE, M. N.; CHOWDHURY, R.; ISLAM, K. M.; AKBAR, M. Propionic acid is an alternative to antibiotics in poultry diet. **BJAS.** 38, 115–122, 2012.
- HOSODA, K.; OHMORIB, H.; NAKAMURA, Y.; KAMIYA, M. Effect of inclusion rate of corn silage in ensiled total mixed ration on dry matter intake, nutrient digestibility, and ruminal fermentation in Japanese Wagyu steer. **Livestock Science**, 229, 126–130, 2019.
- HU, X.; HAO, W.; WANG, H.; NING, T.; ZHENG, M.; XU, C. Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace. *Asian Australians*, **Journal of Animal Science**. v. 28, p. 502 – 510, 2015.
- KUNG L. JR; MUCK R. E. **Animal response to silage additives**. Proceedings of the Silage: field to feed bunk. NRAES-99. North American conference, Hershey, Pennsylvania February 11–13, 1997. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Cooperative Extension, Ithaca, New York, USA pp. 200–210, 1997.
- KUNG, L. J.; SHEPERD, A. C.; SMAGALA, A. M.; ENDRES, K. M.; BESSETT, C. A.; RANJIT, N. K.; GLANCEY, J. L. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. **J. Dairy Sci.** 81, 1322–1330, 1998.
- KUNG JR, L.; ROBINSON J. R.; RANJIT, N. K.; CHEN, J. H.; GOLT, C. M.; PESEK, J. D. Microbial populations, fermentation endproducts, and aerobic stability of cornsilage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of Dairy Science**, 83, 1479–1486, 2001.
- 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. p.305-360, 2003.
- KUNG JR, L. In: **Aerobic Stability of Silage, Proc. 2010 California Alfalfa and Forage Symposium and Crop/cereal Conference**. Visalia, CA, USA, 2010.
- LAMBERT, R. J.; STRATFORD, M. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. **J. Appl. Microbiol.** 86, 157–164, 1999.
- LIU, Q., LI, X., SEARE, T. D., ZHANG J., SHAO, T. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and in vitro digestibility of total mixed rations silage including rape straw. **Journal of Integrative Agriculture** 15: 2087 – 2097, 2016.
- MUCK, R. E.; PITT, R. E. Aerobic deterioration in corn silage relative to the silo face. *Trans. ASAE* 37:735–743, 1994.
- MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, (supl. especial), p. 183-191, 2010.

MUCK, R. E.; NADEAU, E. M. G.; MCALLISTER, T. A.; CONTRERAS-GOVEA, F. E.; SANTOS, M. C.; KUNG, L. Silage review: recent advances and future uses of silage additives. **J. Dairy Sci.** 101, 3980–4000, 2018.

MIYAJI, M.; MATSUYAMA, H.; HOSODA, K.; NONAKA, K. Milk production, nutrient digestibility and nitrogen balance in lactating cows fed total mixed ration silages containing steam-flaked brown rice as substitute for steam-flaked corn, and wet food by-products. **Animal Science Journal.** v. 84, p.483-488, 2013.

MOHAMMADZADEH, H.; KHORVASH, M.; GHORBANI, G. R.; YANG, W. Z. Frosted corn silage with or without bacterial inoculants in dairy cattle ration. **Livestock Science**, v. 145, p. 153-159, 2012.

NISHINO, N., HARADA, H., SAKAGUCHI, E., Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. **Journal of Science.** V.83, p.557-563, 2003a.

NISHINO, N., WADA, H., YOSHIDA, M., SHIOTA, H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Dairy Science.** v.87, p.2563–2570, 2004.

NISHINO, N. et al. Effects of wilting and molasses addition on fermentation and bacterial community in guinea grass silage. **Letters in Applied Microbiology**, v. 54, p. 175-181, 2011.

PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. W. H. O.; SPOELSTRA, S. F. Microbiology of ensiling. In: BUXON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. **Silage science and technology.** Madison: ASA, 2003. Cap. 2, p. 31-93.

PITT, R. E., Y. LIU, AND R. E. MUCK. Simulation of the effect of additives on aerobic stability of alfalfa and corn silages. **Trans. ASAE** 34:1633–1641, 1991.

REN, H.; FENG, Y.; PEI, J.; LI, J.; WANG, Z.; FU, S.; ZHENG, Y.; LI, Z.; PENG, Z. Effects of *Lactobacillus plantarum* additive and temperature on the ensiling quality and microbial community dynamics of cauliflower leaf silages. **Bioresource Technology**, 123238, 2020.

SAKAI, T.; DEVKOTA, N. R.; OISHI, K.; HIROOKA, H.; KUMAGAI, H. Evaluation of total mixed ration silage with brewers grains for dairy buffalo in Tarai, Nepal. **Animal Science Journal**, 86, 884–890, 2015.

SANTOS, J. P.; SOUZA, V. C.; BARBOSA, E. F.; SILVA, R. B.; AVILA, C. L. S.; PEREIRA, R. A. N.; LOBATO, D. N.; PEREIRA, M. N. Aerobic stability of total mixed ration with added microbial growth inhibitors. **J. Dairy Sci.** 102 (Suppl. 1), 204 Abstract, 2019a.

SANTOS, J. P.; SOUZA, V. C.; BARBOSA, E. F.; SILVA, R. B.; PEREIRA, R. A. N.; AVILA, C. L. S.; GRECO, L. F.; PEREIRA, M. N. Efficacy of chemical additives on microbial growth and aerobic stability of total mixed ration. **J. Dairy Sci.** 102 (Suppl. 1), 204 Abstract, 2019b.

SCHADER, C., MULLER, A., SCIALABBA, N.E.-H., HECHT, J., ISENSEE, A., ERB, K.-H., SMITH, P., MAKKAR, H.P., KLOCKE, P., LEIBER, F. Impacts of feeding less food-

competing feedstuffs to livestock on global food system sustainability. **J. R. Soc. Interface**, 2015.

SCHINGOETHE, D. J. A 100-Year Review: Total mixed ration feeding of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 100:10143–10150, 2017.

WANG, F., NISHINO, N., Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. **Journal of Science Food Agriculture**. v.88, p.133–140, 2008.

WANG, C. AND NISHINO, N. Presence of sourdough lactic acid bacteria in commercial total mixed ration silage revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. **J Appl Microbiol** v.51, 436–442, 2010.

WANG, C.; NISHINO, N., Effects of storage temperature and ensiling period on fermentation products, aerobic stability and microbial communities of total mixed ration silage, **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 6, p. 1687–1695, 2013.

XU C.C., CAI Y., MORIYA N., OGAWA M. Nutritive value for ruminants of green tea grounds as a replacement of brewers' grains in totally mixed ration silage. **Animal Feed Science and Technology** v.138, p.228-238, 2007.

YUAN, X.; GUO, G.; WEN, A.; et al. The effect of different additives on the fermentation quality, in vitro digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 207, p. 41-50, 2015.

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, supl. especial, p.170-189, 2009.

## CAPÍTULO II

Inclusão de inoculante microbiano na silagem de dieta total com níveis crescentes de volumoso

### **Inclusão de inoculante microbiano na silagem de dieta total com níveis crescentes de volumoso.**

Hayne Mayumi Cariolano Araki\*, Rafael Henrique T. B. Goes\*, Jefferson Rodrigues Gandra\*

\*Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados-Itahum km 12, Dourados, Brasil, 79.804-970

#### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da adição do inoculante microbiano na silagem de dieta total com níveis crescentes de volumoso. Foi realizado na área experimental da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados na cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram utilizados 60 silos experimentais em um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2X3 onde os tratamentos foram compostos de inclusão de 2 níveis de inoculantes bacterianos (*Lactobacillus plantarum*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup> + *Pediococcus acidilactici*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup>) e 3 relações de volumoso: concentrado (60:40; 50:50 e 40:60). Os silos foram abertos em 60 dias de armazenamento. Os dados foram submetidos ao nível de significância de 5%. Não houve efeito de inoculantes ( $P \geq 0,420$ ) para perdas de gases, efluentes, totais e recuperação da MS, entretante, houve efeito de RVC para perdas por efluentes, gases, totais e recuperação de MS ( $P \leq 0,05$ ). Os tratamentos experimentais aditivados de inoculante bacteriano não apresentaram perdas da estabilidade aeróbica no período avaliado e apresentaram menores valores de pH ao longo do período de exposição ao oxigênio em relação aos demais. As silagens tratadas com inoculante bacteriano apresentaram menores teores de MS (604,00 vs 538,21 g/kg), MO (957,25 vs 947,59 g/kg) e CNF (399,52 vs 357,48 g/kg) e maiores teores de PB (158,04 vs 182,51 g/kg), EE (51,29 vs 61,40 g/kg) e amido. As silagens acrescidas de inoculante bacteriano apresentaram menores concentrações de N-NH<sub>3</sub> (2,44 vs 2,09 %N total) e maiores concentrações de etanol (1,86 vs 2,44 mmol/kg MS), acetato (32,09 vs 47,26 mmol/ kg MS), propionato (0,286 vs 0,499 mmol/kg MS), butirato (0,338 vs 0,512 mmol/ kg MS), lactato (5,14 vs 6,95 mmol/kg MS), AGCR (1,01 vs 1,55 mmol/ kg MS) e ácidos graxos totais (35,59 vs 52,60 mmol/kg MS). A adição de inoculante aumentou a contagem de bactérias anaeróbicas e aeróbicas e reduziu a contagem de fungos. Conclui-se que a relação volumoso:concentrado 50:50 foi ideal para a confecção da silagem de dieta total.

**Palavras-chave:** ensilagem, bactérias, heterfermentativas, homofermentativas

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the influence of the addition of the microbial inoculant in the feed silage in total mixture with increasing levels of roughage. It was carried out in the experimental area of the Faculty of Agricultural Sciences of the Federal University of Grande Dourados in the city of Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. 60 experimental silos were used in a completely randomized design in a 2X3 factorial arrangement where the treatments consisted of including 2 levels of bacterial inoculants (*Lactobacillus plantarum*:  $4 \times 10^{10}$  CFU / g + *Pediococcus acidilactici*:  $4 \times 10^{10}$  CFU / g) and 3 ratios of roughage: concentrated (60:40; 50:50 and 40:60). The silos were opened in 60 days of storage. The data were submitted to a significance level of 5%. There was no effect of inoculants ( $P \geq 0.420$ ) for losses of gases, effluents, totals and recovery of DM, however, there was an effect of RVC for losses by effluents, gases, totals and recovery of DM ( $P \leq 0.05$ ). The experimental treatments with bacterial inoculant added no loss of aerobic stability in the evaluated period and showed lower pH values over the period of exposure to oxygen compared to the others. The silages treated with bacterial inoculant showed lower levels of DM (604.00 vs 538.21 g / kg), OM (957.25 vs 947.59 g / kg) and CNF (399.52 vs 357.48 g / kg) and higher levels of PB (158.04 vs 182.51 g / kg), EE (51.29 vs 61.40 g / kg) and starch. The silages added with bacterial inoculant showed lower concentrations of N-NH<sub>3</sub> (2.44 vs 2.09% N total) and higher concentrations of ethanol (1.86 vs 2.44 mmol / kg DM), acetate (32.09 vs 47.26 mmol / kg DM), propionate (0.286 vs 0.499 mmol / kg DM), butyrate (0.338 vs 0.512 mmol / kg DM), lactate (5.14 vs 6.95 mmol / kg DM), AGCR (1, 01 vs 1.55 mmol / kg DM) and total fatty acids (35.59 vs 52.60 mmol / kg DM). The addition of inoculant increased the count of anaerobic and aerobic bacteria and reduced the count of fungi and molds. It was concluded that the roughage: concentrate 50:50 ratio was ideal for making the total mixed feed silage.

**Keywords:** ensilage, bacteria, heterfermentive, homofermentative

## 1. INTRODUÇÃO

A silagem de TMR consiste em misturar e ensilar coprodutos com os demais ingredientes da ração para animais ruminantes suprindo as exigências nutricionais (NISHINO et al., 2003a). Muitos países do continente asiático tiveram uma recepção positiva pelos benefícios do custo de produção que a silagem proporciona e pelas melhorias com a estabilização ruminal (WANG e NISHINO, 2008). A silagem de TMR tem um papel sustentável pelo aproveitamento de coprodutos para a alimentação de ruminantes, evitando o impacto ambiental e o desperdício.

Alguns descuidos podem ocorrer durante o processo de ensilagem, sendo necessário adquirir estratégias para melhorar o processo de fermentação, o valor nutritivo e diminuir as perdas fermentativas. A utilização de inoculantes contendo bactérias ácido lácticas (BAL) homofermentativas, como *Enterococcus faecium*, e espécies de *Pediococcus*, além de BAL heterofermentativas facultativas (*Lactobacillus plantarum*), têm por intuito aumentar a população destes microrganismos no silo (HOLZER et al., 2003). As silagens tratadas com uma ou mais dessas bactérias são geralmente mais baixas em pH, ácido acético, ácido butírico e amônia-N, mas mais altas em conteúdo de ácido láctico e exibem melhor recuperação do MS em comparação com silagens não tratadas (MUCK E KUNG, 1997). Nishino et al. (2004), concluíram que o aditivo *L. buchneri* é eficiente na diminuição das perdas após a abertura dos silos, inibindo a deterioração aeróbica das silagens de TMR quando ensilados por 60 dias.

Objetivou-se avaliar a influência da inclusão do inoculante microbiano na silagem de dieta total em diferentes níveis de volumoso: concentrado. Portanto, a hipótese do trabalho é que com a inclusão de inoculante microbiano melhora das condições fermentativas da silagem de dieta total, independentemente, do nível de inclusão de forragem no momento da ensilagem.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de janeiro a março de 2018 no setor de nutrição animal da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados, cidade de Dourados, MS.

### 2.1. Preparo da silagem

Foi utilizada a planta de milho verde da variedade BIOMATRIX BM 361, colhida aos 110 dias. Para o preparo dos silos experimentais foi utilizado baldes de polietileno de 40 cm de altura e 30 cm de diâmetro com tampas com válvulas de Bunsen para permitir o escape dos gases. No fundo dos silos, foi colocada 2 kg de areia seca, separada da forragem por um tecido

de náilon para quantificação do efluente produzido. Após a compactação da forragem, os silos foram vedados com fita adesiva, pesados e armazenados.

Foram utilizados 60 silos experimentais em um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2X3, 2 níveis de inoculantes bacterianos (KeraSIL® *Lactobacillus plantarum*:  $4 \times 10^{10}$  UFC g<sup>-1</sup> + *Pediococcus acidilactici*:  $4 \times 10^{10}$  UFC g<sup>-1</sup>) e 3 relações de volumoso: concentrado (60:40; 50:50 e 40:60) (Tabela 1). A forragem utilizada foi o milho e as dietas totais ensiladas foram balanceadas de acordo com o NRC (2001) para vacas Jersey com peso corporal de 400 kg, 100 dias de lactação, produção média de 20 kg dia<sup>-1</sup>, teor de gordura de 4,2%, proteína de 3,4% e lactose de 4,57.

**Tabela 1.** Composição nutricional dos silos experimentais no momento da ensilagem.

Item	Tratamentos experimentais <sup>1</sup>		
	RVC 40:60	RVC 50:50	RVC 60:40
Ingredientes (%)			
Milho planta verde <sup>2</sup>	40,00	50,00	60,00
Milho fubá	38,40	28,40	18,40
Grão de soja	17,00	17,00	17,00
Ureia protegida <sup>3</sup>	1,60	1,60	1,60
Núcleo mineral <sup>4</sup>	3,00	3,00	3,00
<b>Composição nutricional (g/kg MS)</b>			
Matéria seca	664,16	607,89	551,62
Matéria orgânica	943,64	940,76	937,88
Cinzas	56,36	59,24	62,12
Proteína bruta	170,48	169,56	168,64
Extrato etéreo	57,91	57,11	56,31
FDN	328,84	372,62	416,40
FDA	143,26	166,19	189,12
Lignina	32,90	37,69	42,48
Amido	403,96	360,66	317,36
CNF	386,41	341,47	296,53
NDT <sup>5</sup>	666,36	651,19	636,03
EL <sub>L</sub> (Mcal/kg MS) <sup>6</sup>	1,51	1,47	1,44

<sup>1</sup>Relação volumoso:concentrado. <sup>2</sup>Planta de milho verde variedade BIOMATRIX BM 361, colhido aos 110 dias.

<sup>3</sup>Equivalência proteica de 250%. <sup>4</sup>Níveis de garantia (Kg/produto): Cálcio: 120,00 g, Fósforo: 88,00 g, Iodo: 75,00 mg, Manganês: 1300,00 mg, Sódio: 126,00 g, Selênio: 15,00 mg, Enxofre: 12,00 mg, Zinco: 3630,00 mg, Cobalto: 55,50 mg, Cobre: 1530,00 mg e Ferro: 1800,00 mg. <sup>5,6</sup>Calculado de acordo com o (NRC 2001).

## 2.2. Perdas fermentativas

Para avaliar as perdas fermentativas, alguns parâmetros são analisados como perdas por gases, produção de efluentes e recuperação da matéria seca (RMS). As equações utilizadas foram de Jobim et. al. (2007).

Aos 60 dias de fermentação, os silos foram novamente pesados para a determinação das perdas por gases e, em seguida, abertos. As perdas por gases foram calculadas de acordo com a equação a seguir:

$$PG = \frac{PSi - PSF}{MSE} \times 100$$

em que: PG = perda por gases (% da MS); PSi = peso do silo cheio e fechado (kg); PSF = peso do silo no momento da abertura (kg); e MSE = matéria seca ensilada (quantidade em kg x teor de MS).

Após a retirada da silagem, o conjunto silo, areia e tecido de náilon foram pesados para a quantificação do efluente produzido. A determinação da produção de efluente foi calculada pela equação:

$$PE = \frac{PSAf - PSAi}{MNE} \times 1000$$

em que: PE = produção de efluente (kg de efluente/tonelada de matéria natural ensilada); PSAf = peso do conjunto silo, areia e tela de náilon após da abertura (kg); PSAi = peso do conjunto silo, areia e tela de náilon antes da ensilagem (kg); e MNE = quantidade de forragem ensilada (kg).

A recuperação da MS (RMS) foi calculada conforme a equação:

$$RMS = \frac{MSi}{MSF} \times 100$$

em que: MSf = quantidade de MS final; MSi = quantidade de MS inicial

### 2.3. Estabilidade aeróbia

Após a abertura dos silos, as amostras foram colocadas em baldes plásticos, pesadas e armazenadas em temperatura ambiente para avaliação da estabilidade aeróbica. A mensuração da temperatura no interior das silagens foi feita com termômetro digital de infravermelho a cada oito horas durante cinco dias. Foram registradas a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar através de termo-higrômetro digital. A estabilidade aeróbica foi calculada com o tempo gasto, em horas, para a massa de forragem elevar em 1 °C em relação temperatura ambiente (DRIEHUIS et al., 2001). Para determinar a matéria seca (MS), retirou e pesou  $\pm 20$  g do material ensilado para posteriormente colocar na estufa a 105 °C por 24 horas (AOAC, 2000). De acordo com Jobim et al. (2007), as perdas da massa ensilada foram calculadas pela seguinte equação:

$$PMS = \frac{MSi - MSf}{MSi} \times 100$$

em que: MSi = quantidade inicial de MS; MSf = quantidade final de MS



## 2.4. Valor nutricional

Após a abertura dos silos, amostras compostas foram pesadas e levadas para a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55 °C durante 72 horas e posteriormente foram moídas em moinho de facas até a obtenção de partículas de 1mm. Foram armazenadas em potes de plástico para a determinação de MS (método 950.15), cinzas (método 942.05) e proteína bruta (PB,  $N \times 6.25$ , método Kjeldahl 984.13), extrato de etéreo (EE, método 920.39), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (método 973.18), conforme a metodologia descrita por AOAC (2000), e matéria orgânica (MO, 1000-cinzas). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991) e o teor de amido conforme metodologia descrita por Hendrix (1993). As concentrações em carboidratos não-fibrosos (CNF) foram obtidas a partir da equação:  $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%cinzas + \%FDN)$ .

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Tilley e Terry (1963) modificada por Holden (1999), utilizando o rúmen artificial (DaisyII Fermenter®, Ankom). Foram pesados 0,5 g de amostra em sacos de TNT-100 gm-1, tamanho 5,0 x 5,0 cm, de acordo com Casali et al. (2009). Os sacos foram distribuídos uniformemente nos frascos de rúmen artificial com 10 sacos/ frasco (8 sacos com amostras e 2 sacos em branco), totalizando 90 sacos. Os sacos em branco (sem amostras) foram utilizados para corrigir dados. Foram adicionados a solução tampão, o inóculo ruminal e CO<sub>2</sub> a cada frasco para manter o ambiente anaeróbico. Os frascos permaneceram no rúmen artificial a 39 °C por 48 horas sob agitação contínua. Após 48 horas, a incubação foi interrompida e os sacos foram lavados em água corrente e tratados com solução de detergente neutro, resultando em um resíduo constituído apenas por parede celular indigestível, de acordo com Goering e Van Soest (1970). Os sacos obtidos no final da incubação foram utilizados para determinar a digestibilidade *in vitro* da proteína bruta. O NDT foi obtido pela fórmula  $NDT (\%) = dCNF + dPB + (dEE \times 2,25) + dFDN$ , em que “d” representa a digestibilidade aparente dos diferentes componentes (NRC, 2001).

## 2.5. Análise microbiológica

Conforme a metodologia descrita por Silva et al. (1997), foram realizadas as análises microbiológicas com adaptações. As amostras foram coletadas, sendo retiradas de várias partes dos silos, e 10 g foram diluídas em solução de cloreto de sódio esterilizada (90 ml). A partir desta suspensão bacteriana, foi obtida a diluição de 10<sup>-2</sup>, retirando uma alíquota de 1 ml e adicionando em um tubo de ensaio contendo 9 ml de solução salina (cloreto de sódio 0,9%) e homogeneizado em vórtex. O processo foi repetido até a diluição de 10<sup>-6</sup>.

A contagem de microrganismos foi realizada em triplicata através de diluições decimais em placas de Petri. Para as bactérias de ácido lático foi utilizado o método de plaqueamento em profundidade (pour plate) no meio de cultura MRS (De Man, Rogosa e Sharpe), as placas foram incubadas em estufa a 35 °C por 48 horas. Para análise de bactérias anaeróbicas foi utilizado o método de plaqueamento em gotas (drop plate) e para as anaeróbicas facultativas o método utilizado foi de plaqueamento em profundidade (pour plate) no meio de cultura PCA (Plate Count Ágar). As placas foram incubadas em estufa a 34 °C por 48 horas para os microrganismos aeróbicos e a 37 °C por 48 horas para os microrganismos anaeróbicos facultativos. Para fungos totais, foi feito plaqueamento em superfície (spread plate) no meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) e as placas foram incubadas em estufa a 26 °C por 120 horas.

Após o tempo de incubação, realizou-se a contagem dos microrganismos. Considerando apenas as placas que apresentaram contagem entre 30 e 300 unidades formadoras de colônia (UFC). Realizou-se a média aritmética. Os valores absolutos foram obtidos a partir de UFC e depois transformados em log. Todas as análises acima citadas, foram realizadas no primeiro dia de abertura dos silos.

## **2.6. Perfil fermentativo**

Após a abertura dos silos, a silagem foi homogeneizada e 200 g de cada silo experimental foram coletadas para, através de pressão, fazer a extração do suco da silagem. Para a mensuração do pH foram utilizadas 10 g de amostra homogeneizada em 50 ml de água destilada e deixada em repouso por 30 minutos. A leitura do pH foi realizada com um medidor de pH. Para análise dos ácidos orgânicos foi utilizada metodologia de Erwin et al. (1961). Quanto ao nitrogênio amoniacal, a análise foi feita por meio de um método colorimétrico como descrito por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977). As análises de ácidos graxos de cadeia curta, etanol e ácido lático foram realizadas no Departamento de Química na Universidade Federal de São Carlos, Campus Araras, segundo os métodos descritos por Rodrigues et al. (2012). A concentração láctica foi avaliada por cromatografia líquida de alta performance (sistema HPLC LC-10ADV Shimadzu, Shimadzu Inc., Kyoto, Japão), como descrita por Ding et al. (1995).

## **2.7. Análises estatísticas**

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.4, SAS Institute, Cary, NC 2015), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + I_i + R_j + I_i(R_j) + e_{ij}$$

Onde:  $Y_{ij}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $I_i$  = efeito fixo de inoculante ( $i = 1$  a  $2$ );  $R_j$  = efeito de relação volumoso: concentrado ( $j = 1$  a  $13$ );  $I_i(R_j)$  = efeito de interação;  $e_{ij}$  = erro. Os graus de liberdade serão corrigidos por  $DDFM = kr$ . Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.4 (SAS, 2015), adotando-se nível de significância de 5%.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Perdas fermentativas

Não foi observado efeito de inoculante ( $P \geq 0,420$ ) para as perdas de gases (MN e MS), efluentes (MN e MS), totais (MS) e recuperação de MS (Tabela 2). De maneira semelhante não foi observado efeito de interação relação volumoso:concentrado\*inoculante ( $P \geq 0,085$ ). Entretanto na avaliação da relação volumoso:concentrado (RVC) foi observado efeito ( $P \leq 0,05$ ) para perdas por efluentes (MN), gases (MS), totais (MS) e recuperação de MS.

O tratamento RVC 50:50 apresentou menor perda por efluente (42,83 vs 39,21 vs 57,95 g/kg MN), gases (76,56 vs 74,54 vs 136,15 g/kg MS) e totais (84,55 vs 83,82 vs 147,04 g/kg MS) e maior recuperação de MS (915,45 vs 916,75 vs 852,95 g/kg MS).

**Tabela 2.** Perdas fermentativas de acordo com as dietas experimentais.

Item	Controle			Inoculante <sup>1</sup>			EPM <sup>3</sup>	Valor de P <sup>4</sup>		
	40:60 <sup>2</sup>	50:50	60:40	40:60	50:50	60:40		INO	RVC	INT
	<b>Perdas (g/kg)</b>									
Gases (MN)	9,74	8,51	11,63	9,42	8,45	10,87	0,923	0,524	0,849	0,989
Efluente (MN)	45,84	42,10	58,33	39,81	36,33	57,57	2,724	0,872	0,050	0,730
Gases (MS)	62,80	64,27	148,29	90,32	85,26	124,02	7,303	0,420	<,0001	0,086
Efluente (MS)	9,06	8,84	10,82	6,91	9,26	10,94	0,542	0,618	0,102	0,570
Total (MS)	71,86	73,11	159,12	97,24	94,53	134,97	7,366	0,440	<,0001	0,085
Recuperação (MS)	928,14	926,88	840,88	902,76	905,47	865,03	7,366	0,440	<,0001	0,085

<sup>1</sup>Inoculante microbiano (KeraSIL® *Lactobacillus plantarum*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup> + *Pediococcus acidilactici*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup>). <sup>2</sup>Relação volumoso:concentrado. <sup>3</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>4</sup>INO (efeito de inoculante microbiano), RVC (efeito de relação volumoso:concentrado), INT (efeito de interação entre inoculante e relação volumoso:concentrado).

### 3.2. Estabilidade aeróbia

Para a avaliação da diferença de temperatura (ambiente – silos) não foi observado efeito ( $P \geq 0,178$ ) de RVC, inoculante e interação RVC\*inoculante. Entretanto foi observado efeito de tempo ( $P = 0,001$ ), interação tempo\* RVC ( $P = 0,001$ ) e inoculante\*tempo ( $P = 0,0001$ ) (Figura 1).

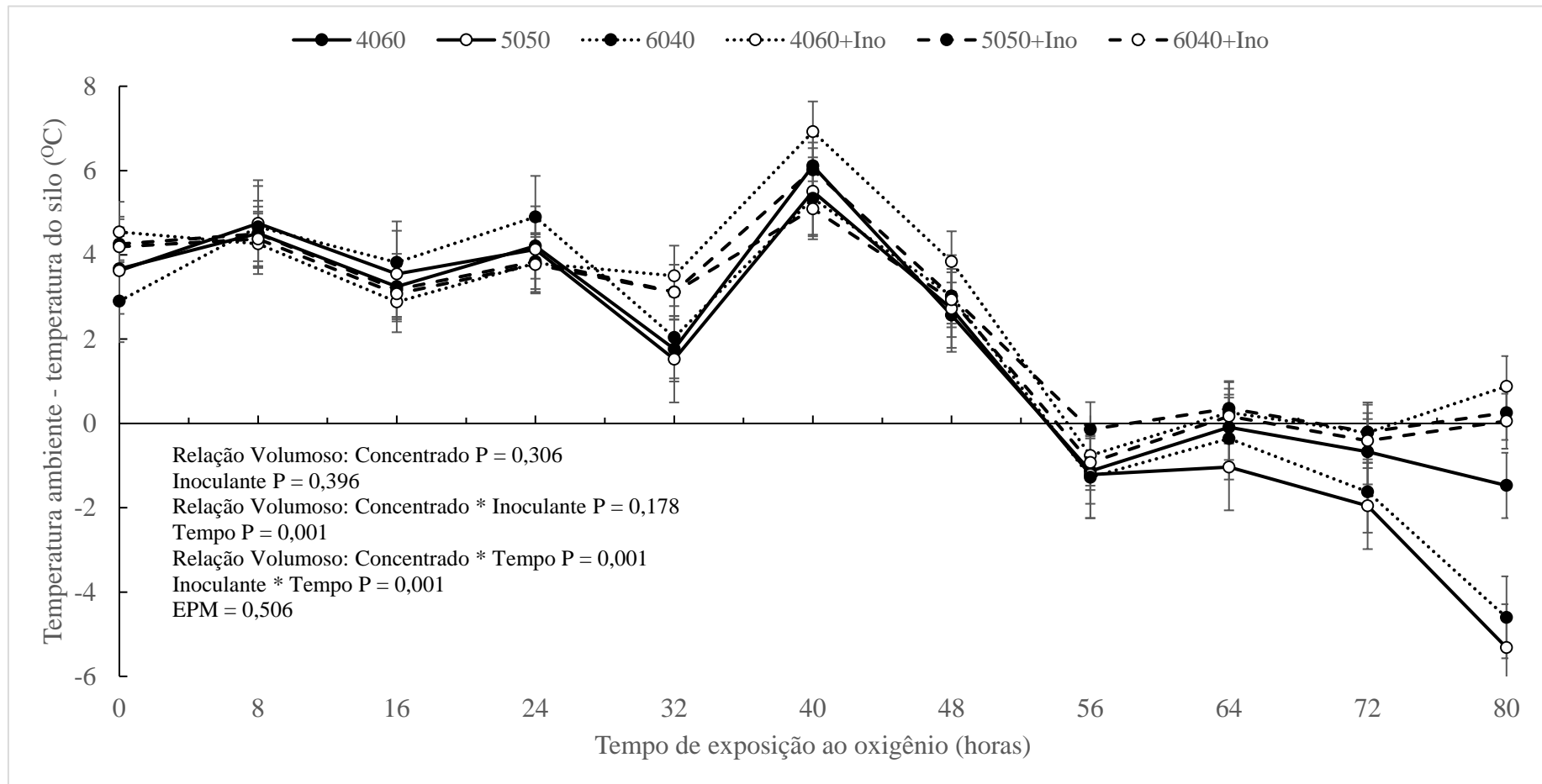
Os tratamentos experimentais aditivados de inoculante bacteriano não apresentaram perdas da estabilidade aeróbica no período avaliado. De modo geral todos tratamentos experimentais começaram a perder a estabilidade aeróbica a partir das 56 horas de exposição ao oxigênio, exceto o tratamento RVC 50:50 inoculado. As 64 horas de avaliação apenas o tratamento RVC 50:50 sem adição de inoculante perdeu a estabilidade. O tratamento RVC 60:40 apresentou diferença de temperatura (ambiente – silos) superior a 2°C as 72 horas de avaliação e o RVC 40:60 as 80 horas.

Na avaliação do teor de MS ao longo do tempo de exposição ao oxigênio não foi observado ( $P \geq 0,187$ ) efeito de RVC, inoculante e interação RVC\*tempo. Entretanto, foi observado efeito ( $P \leq 0,025$ ) de tempo, interação RVC\*inoculante e inoculante \*tempo (Figura 2).

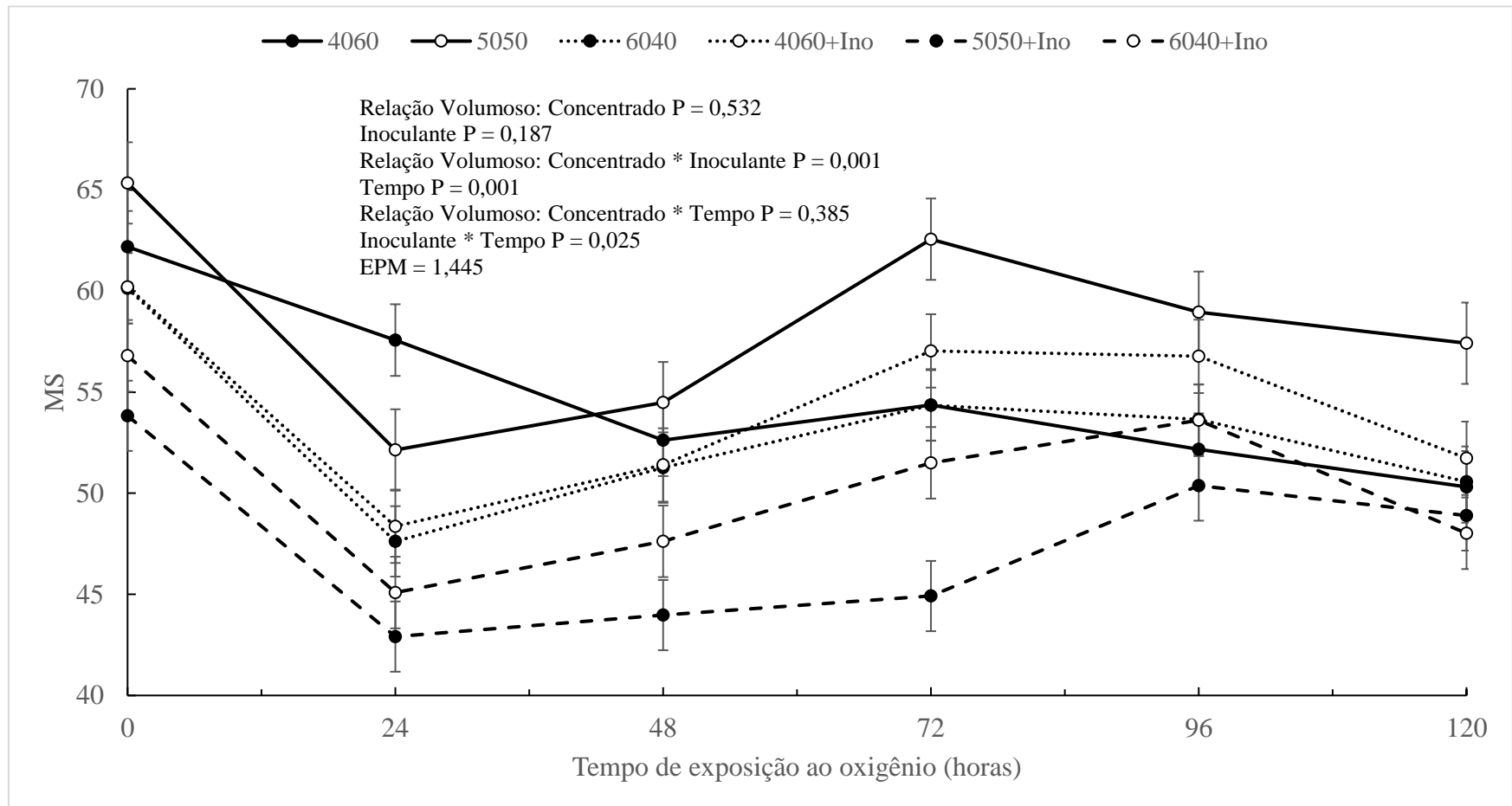
Houve uma redução da MS 24 horas após a abertura a abertura dos silos para todos os tratamentos exceto para RVC 40:60 sem adição de inoculante. Após as primeiras 24 horas de avaliação de modo geral foi observado valores mais estáveis de MS para todos os tratamentos. No período de avaliação os materiais aditivados apresentaram menores teores de MS em relação aos não aditivados, entretanto foi observado maior estabilidade dos teores de MS para os materiais aditivados em relação aos demais. O tratamento RVC 50:50 com inoculante apresentou menor variação após 24 horas de abertura dos silos, nos teores de MS ao longo do período avaliado.

Os valores de pH dos tratamentos não foram influenciados ( $P \geq 0,144$ ) pela relação volumoso:concentrado e interação RVC\*inoculante. Entretanto, o pH dos materiais ensilados foi influenciado ( $P \leq 0,033$ ) pelo inoculante, tempo e interações RVC\*tempo e inoculante\*tempo (Figura 3).

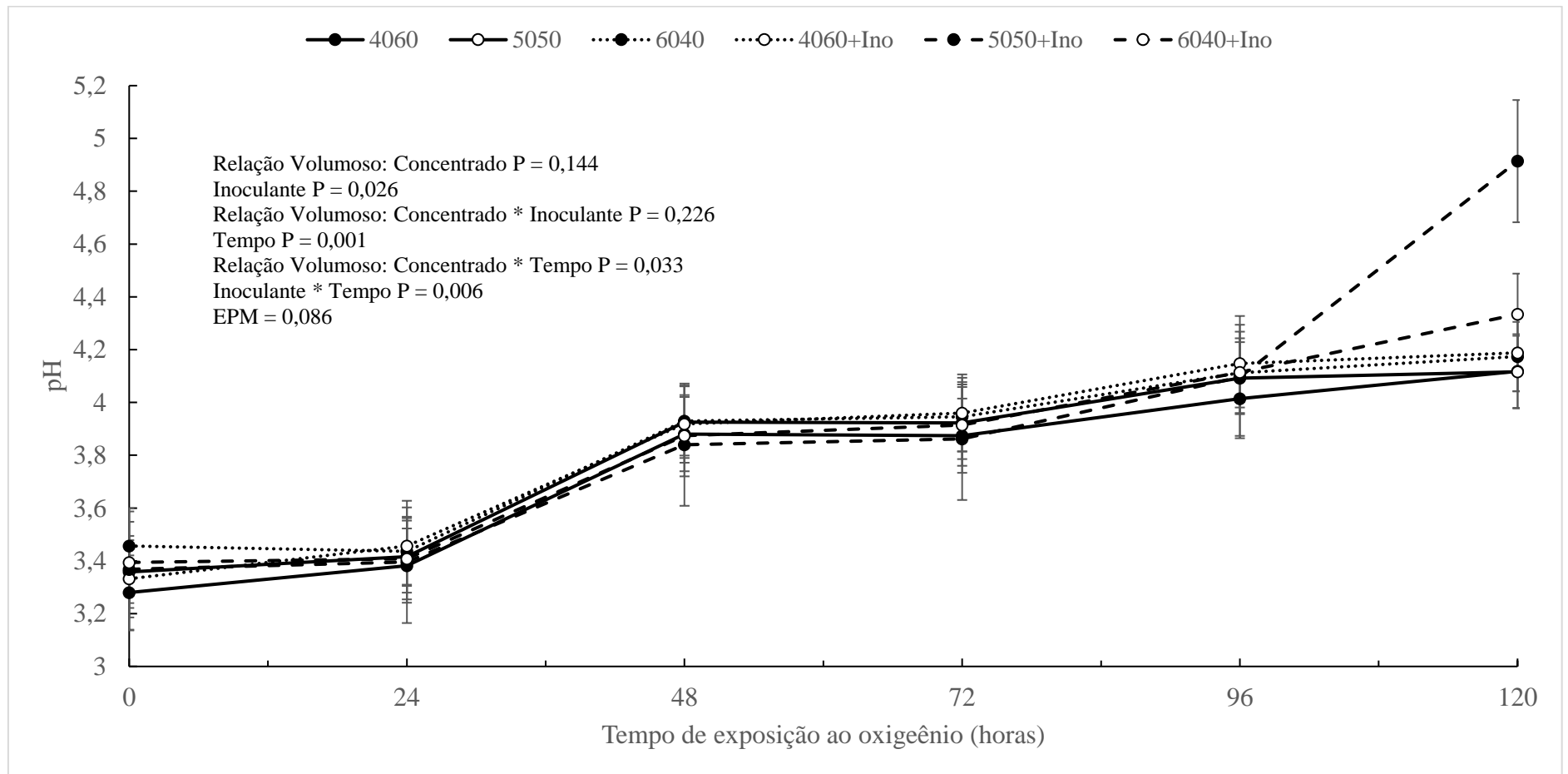
Os tratamentos aditivados com inoculante bacteriano apresentaram menores valores de pH ao longo do período de exposição ao oxigênio em relação aos demais. Entre 24 e 48 horas de avaliação houve um aumento nos valores de pH para todos os materiais avaliados. Após as 48 horas os valores de pH apresentados mantiveram uma faixa pequena de variação no período avaliado, excetuando o tratamento RVC 50:50 com inoculante as 120 horas de avaliação.



**Figure 1.** Variação da diferença de temperatura (°C) da silagem e do ambiente em relação ao tempo de exposição ao oxigênio dos silos experimentais.



**Figure 2.** Teores de MS no tempo de exposição ao oxigênio dos silos experimentais.



**Figure 3.** Concentração de pH no período de exposição de oxigênio dos materiais ensilados.



### 3.3. Valor nutricional

A inclusão de inoculante influenciou ( $P \leq 0,003$ ) os teores de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, amido, carboidratos não fibrosos e cinzas das silagens experimentais (Tabela 3). As silagens tratadas com inoculante bacteriano apresentaram menores teores de matéria seca (604,00 vs 538,21 g/kg) e matéria orgânica (957,25 vs 947,59 g/kg), carboidratos não fibrosos (399,52 vs 357,48 g/kg) respectivamente para controle e inoculante. Entretanto as silagens experimentais tratadas com inoculante apresentaram teores maiores para proteína bruta (158,04 vs 182,51 g/kg), extrato etéreo (51,29 vs 61,40 g/kg), amido (340,41 vs 342,49 g/kg) e cinzas (42,74 vs 52,60 g/kg), respectivamente.

A relação volumoso:concentrado também influenciou ( $P \leq 0,046$ ) os teores de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, amido, cinzas e digestibilidade *in vitro* da matéria seca proteína bruta e fibra em detergente neutra. O tratamento RVC 50:50 apresentou maiores valores para a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (738,85 vs 743,23 vs 731,28 g/kg), proteína bruta (774,10 vs 806,15 vs 757,13 g/kg) e fibra em detergente neutro (570,24 vs 604,40 vs 589,99), respectivamente para RVC 40:60, 50:50 e 60:40.

Foi observado efeito ( $P \leq 0,042$ ) de interação RVC\*inoculante para os teores de matéria seca, proteína bruta e amido. Em relação aos teores de matéria seca os tratamentos RVC 40:60 e 50:50 controle apresentaram valores superiores a RVC 50:50 e 60:40 inoculante, porém não apresentaram diferenças para os tratamentos RVC 60:40 controle e 40:60 inoculante. Os tratamentos RVC 40:60 e 50:50 controle apresentaram menores teores de proteína em relação as demais silagens avaliadas. O tratamento RVC 40:60 controle apresentou maior teor de amido em relação aos demais, as silagens RVC 50:50 e 60:40 controle e 40:60 inoculante apresentaram menores valores e as silagens 50:50 e 60:40 apresentaram valores intermediários.

**Tabela 3.** Valor nutricional de acordo com as silagens de ração em mistura total.

Item	Controle			Inoculante <sup>1</sup>			EPM <sup>3</sup>	Valor de P <sup>4</sup>		
	40:60 <sup>2</sup>	50:50	60:40	40:60	50:50	60:40		INO	RVC	INT
	<i>(g/kg)</i>									
Matéria seca	613,80 <sup>a</sup>	631,90 <sup>a</sup>	566,31 <sup>ab</sup>	553,53 <sup>ab</sup>	576,29 <sup>b</sup>	484,82 <sup>c</sup>	11,273	0,001	0,001	0,001
Matéria orgânica	959,72	958,46	953,58	952,16	945,38	944,63	1,202	0,001	0,004	0,162
Proteína bruta	144,64 <sup>c</sup>	149,29 <sup>c</sup>	180,19 <sup>a</sup>	182,97 <sup>a</sup>	177,31 <sup>b</sup>	187,27 <sup>a</sup>	3,813	0,001	0,025	0,042
Extrato etéreo	57,00	47,14	49,79	63,06	60,79	60,35	1,742	0,001	0,321	0,101
Amido	391,98 <sup>a</sup>	317,08 <sup>c</sup>	312,19 <sup>c</sup>	324,81 <sup>c</sup>	350,28 <sup>b</sup>	352,68 <sup>b</sup>	12,503	0,001	0,001	0,001
FDN	358,37	341,80	344,96	342,97	400,01	346,99	7,423	0,321	0,297	0,102
FDA	161,58	167,75	171,58	157,71	173,77	181,58	6,162	0,543	0,654	0,543
Lignina	48,20	48,10	52,66	41,81	47,11	56,68	0,721	0,533	0,443	0,332
CNF	399,71	420,22	378,64	363,16	369,27	340,02	10,162	0,003	0,424	0,076
Cinzas	40,28	41,54	46,41	47,83	54,62	55,37	1,206	0,001	0,004	0,162
NDT	696,82	688,36	687,66	703,08	689,42	704,77	2,142	0,223	0,068	0,079
EL <sub>L</sub> (Mcal/kg)	1,58	1,56	1,56	1,62	1,57	1,60 <sup>a</sup>	0,053	0,223	0,068	0,079
	<i>Digestibilidade in vitro (g/kg)</i>									
Matéria seca	718,40	742,82	703,73	759,30	743,65	758,82	7,303	0,301	0,043	0,365
Proteína bruta	748,53	766,56	705,04	799,67	845,74	809,21	10,042	0,457	0,046	0,193
FDN	564,00	612,48	549,40	576,48	596,32	630,58	13,661	0,549	0,041	0,233

<sup>1</sup>Inoculante microbiano (KeraSIL® *Lactobacillus plantarum*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup> + *Pediococcus acidilactici*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup>). <sup>2</sup>Relação volumoso:concentrado. <sup>3</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>4</sup>INO (efeito de inoculante microbiano), RCV (efeito de relação volumoso:concentrado), INT (efeito de interação entre inoculante e relação volumoso:concentrado).

### 3.4. Perfil fermentativo

A adição de inoculante influenciou as concentrações de N-NH<sub>3</sub> (%N total), etanol, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, lactato, ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) e ácidos graxos totais (mmol/kg MS) (Tabela 4). As silagens acrescidas de inoculante bacteriano apresentaram menores concentrações de N-NH<sub>3</sub> (2,44 vs 2,09 %N total) e maiores concentrações de etanol (1,86 vs 2,44 mmol/kg MS), acetato (32,09 vs 47,26 mmol/ kg MS), propionato (0,286 vs 0,499 mmol/kg MS), butirato (0,338 vs 0,512 mmol/ kg MS), lactato (5,14 vs 6,95 mmol/kg MS), AGCR (1,01 vs 1,55 mmol/ kg MS) e ácidos graxos totais (35,59 vs 52,60 mmol/kg MS), respectivamente.

A relação volumosa:concentrado influenciou ( $P \leq 0,033$ ) as concentrações de pH, N-NH<sub>3</sub> (%N total), etanol, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato, lactato, ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) e ácidos graxos totais (mmol/kg MS). Em relação ao pH o tratamento RVC 60:40 apresentaram maiores valores de pH (3,30 vs 3,35 vs 3,42), acetato (34,34 vs 38,51 vs 46,17 mmol/kg MS), ácidos graxos totais (38,31 vs 42,77 vs 51,21 mmol/ kg MS) e menores de lactato (6,71 vs 5,99 vs 5,44 mmol/ kg MS), respectivamente para RVC 40:60, 50:50 e 60:40.

Foi observado efeito ( $P \leq 0,017$ ) de interação RVC\*inoculante para as concentrações de propionato e butirato (mmol/kg MS). Os tratamentos RVC 50:50 e 60:40 inoculante apresentaram maiores concentrações de propionato e butirato em relação aos tratamentos RVC 40:60 e 50:50 controle, porém não apresentaram diferenças para os tratamentos RVC 60:40 controle e 40:60 inoculante.

**Tabela 4.** Perfil fermentativo de acordo com as silagens de ração em mistura total.

Item	Controle			Inoculante <sup>1</sup>			EPM <sup>3</sup>	Valor de P <sup>4</sup>		
	40:60 <sup>2</sup>	50:50	60:40	40:60	50:50	60:40		INO	RVC	INT
pH	3,28	3,35	3,45	3,33	3,36	3,39	0,016	0,954	0,012	0,304
N-NH <sub>3</sub>	2,88	2,31	2,13	2,18	2,13	1,98	0,085	0,042	0,018	0,155
					<i>(%N total)</i>					
					<i>mmol/kg MS</i>					
Etanol	2,05	1,54	1,99	2,15	2,77	2,41	0,133	0,001	0,008	0,604
Acetato	29,15	27,21	39,91	39,53	49,81	52,44	2,122	0,001	0,004	0,153
Propionato	0,258 <sup>b</sup>	0,253 <sup>b</sup>	0,347 <sup>ab</sup>	0,390 <sup>ab</sup>	0,518 <sup>a</sup>	0,591 <sup>a</sup>	0,024	0,001	0,001	0,017
Butirato	0,323 <sup>b</sup>	0,298 <sup>b</sup>	0,393 <sup>ab</sup>	0,418 <sup>ab</sup>	0,575 <sup>a</sup>	0,542 <sup>a</sup>	0,020	0,001	0,001	0,001
Isobutirato	0,205	0,183	0,247	0,283	0,356	0,205	0,012	0,001	0,004	0,603
Valerato	0,649	0,325	0,451	0,481	0,627	0,591	0,021	0,001	0,005	0,704
Isovalerato	0,396	0,372	0,510	0,606	0,694	0,668	0,024	0,432	0,001	0,654
Lactato	5,67	5,09	4,67	7,76	6,89	6,21	1,095	0,004	0,003	0,213
AGCR	0,966	0,881	1,20	1,37	1,67	1,60	2,322	0,001	0,002	0,761
Total	32,75	30,19	43,85	43,87	55,36	58,58	0,057	0,001	0,033	0,125

<sup>1</sup>Inoculante microbiano (KeraSIL® *Lactobacillus plantarum*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup> + *Pediococcus acidilactici*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup>). <sup>2</sup>Relação volumoso:concentrado. <sup>3</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>4</sup>INO (efeito de inoculante microbiano), RVC (efeito de relação volumoso:concentrado), INT (efeito de interação entre inoculante e relação volumoso:concentrado).

### 3.5. Perfil microbiológico

A adição de inoculante bacteriano influenciou ( $P = 0,001$ ) as contagens de bactérias anaeróbicas, aeróbicas e fungos ( $\log_{10}$ ) (Tabela 5). A adição de inoculante aumentou a contagem de bactérias anaeróbicas (4,91 vs 5,98  $\log_{10}$ ) e aeróbicas (5,26 vs 5,64  $\log_{10}$ ) e reduziu a contagem de fungos (5,32 vs 4,19  $\log_{10}$ ).

A relação volumoso:concentrado influenciou ( $P \leq 0,004$ ) a contagem de bactérias ácido lácticas, anaeróbicas e fungos. Os tratamentos RVC 50:50 apresentaram maiores contagens de bactérias ácido lácticas (5,99 vs 6,23 vs 4,67  $\log_{10}$ ) e menores contagens de fungos (4,91 vs 4,50 vs 4,86  $\log_{10}$ ), respectivamente para o RVC 40:60, 50:50 e 60:40.

**Tabela 5.** Perfil microbiológico de acordo com as silagens de ração em mistura total.

Item	Controle			Inoculante <sup>1</sup>			EPM <sup>3</sup>	Valor de P <sup>4</sup>		
	40:60 <sup>2</sup>	50:50	60:40	40:60	50:50	60:40		INO	RVC	INT
	<i>(log<sub>10</sub>)</i>									
Ácido lácticas	5,36	6,77	4,73	6,63	5,69	4,62	0,016	0,685	0,001	0,231
Anaeróbicas	5,46	4,54	4,70	7,65	5,72	4,57	0,085	0,001	0,001	0,565
Aeróbicas	5,23	7,43	3,08	7,54	5,63	3,77	0,133	0,001	0,312	0,323
Fungos	5,32	5,43	5,22	4,50	3,57	4,50	2,122	0,001	0,004	0,153

<sup>1</sup>Inoculante microbiano (KeraSIL® *Lactobacillus plantarum*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup> + *Pediococcus acidilactici*: 4x10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup>) <sup>2</sup>Relação volumoso:concentrado. <sup>3</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>4</sup>INO (efeito de inoculante microbiano), RVC (efeito de relação volumoso:concentrado), INT (efeito de interação entre inoculante e relação volumoso:concentrado)

## **4. DISCUSSÃO**

### **4.1. Perdas fermentativas**

A composição do inoculante utilizado apenas com bactérias homofermativas (*Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*) não influenciaram as perdas fermentativas, visto que essas cepas bacterianas têm características de produção de ácido lático e tem características de redução de perdas fermentativas.

*Lactobacillus plantarum* são microrganismos compatíveis com vários substratos, com altos ou baixos teores de carboidratos solúveis. Esses microrganismos são ideais para serem utilizados como inoculantes devido ao seu crescimento vigoroso, à capacidade de competir e dominar outros microrganismos, crescimento homofermentativo, tolerante a ácidos e contínuo durante todo o processo de fermentação (HOFFMANN et al. 2011). O rápido crescimento das cepas de *Pediococcus* em pH alto provavelmente produz maior concentração de lactato em relação a outras bactérias individuais inibindo a atividade proteolítica do material ensilado (WANG e NISHINO, 2008).

As maiores perdas de matéria seca foram observadas para as silagens com maiores teores de forragem (RVC 60:40) ou maiores teores de carboidratos solúveis (RVC 40:60). A maior porcentagem de inclusão de volumoso reduz o teor de matéria seca dos tratamentos no momento da ensilagem fato que contribui com os aumentos das perdas por efluentes e perdas de matéria seca (HAIGH, 1999). A maior inclusão de milho (Tabela 1) na formulação do tratamento (RVC 40:60) está diretamente relacionado com as maiores perdas apresentadas devidas as altas concentrações de amido no momento da ensilagem. Gusmão et al. (2017) observou resultados semelhantes avaliando silagens de dieta total utilizando diferentes fontes de carboidratos não fibrosos na formulação dos tratamentos experimentais.

As silagens (RVC 50:50) apresentaram menores perdas fermentativas devido ao equilíbrio nutricional existente entre o conteúdo de fibra em detergente neutro e carboidratos não fibrosos deste tratamento (Tabela 3) fato justificado devido a formulação inicial das dietas a serem ensiladas serem apenas isonitrogenadas. Os maiores teores de MS apresentados para estes tratamentos após a abertura dos silos reforçam ainda mais as perdas apresentadas pelos tratamentos supracitados.

### **4.2. Estabilidade aeróbia**

Na grande maioria dos estudos a utilização de inoculantes compostos por bactérias homoláticas reduzem a estabilidade aeróbica dos materiais ensilados (RANJIT e KUNG JR.; 2001; KUNG et al., 2003; KLEINSCHMIT et al., 2005), principalmente quando comparados a

bactérias heterofermentativas (KUNG et al., 2003), entretanto no presente estudo não foi observado efeitos positivos comparados ao controle, principalmente na avaliação da diferença de temperatura (ambiente – silos).

A manutenção da estabilidade aeróbica, avaliando a temperatura dos silos é mais evidente após 64 horas de exposição ao oxigênio, muito provavelmente este resultado está relacionado com a inclusão do *Pediococcus acidilactici* na formulação do aditivo. Esta cepa bacteriana tem a taxa de crescimento e acidificação muito rápida a 20°C e contribui sinergicamente para o crescimento do *Lactobacillus plantarum* após abertura dos silos (FITZSIMONS et al. 1992).

A maior estabilidade dos teores de MS relacionado aos tratamentos com inoculante ao longo do tempo de avaliação reforça a ação sinérgica entre as cepas de bactérias homoláticas utilizadas, principalmente associado ao alto conteúdo de carboidratos não fibrosos dos tratamentos experimentais. Da Silva et al. (2017) relata resultados semelhantes utilizando *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* em silagens com alto teor de amido.

Os valores de pH observados ao longo do período de exposição do oxigênio apresentados pelos tratamentos acrescidos de inoculante bacteriano, estão de acordo com os valores de temperatura e matéria seca apresentados. A estabilidade do pH observada principalmente após as 48 horas de avaliação está relacionada com o crescimento do *Lactobacillus plantarum* produtor de ácido láctico proporcionado pela fisiologia do crescimento do *Pediococcus acidilactici*. Fitzsimons et al. (1992) utilizando 18 cepas diferentes de *Pediococcus acidilactici* observou resultados semelhantes ao deste estudo para 8 destas cepas em relação ao comportamento do pH ao longo do período de exposição ao oxigênio.

### **4.3. Valor nutricional**

Os menores teores de matéria seca, matéria orgânica e carboidratos não fibrosos observado para as silagens de dieta total acrescidas de inoculante está relacionado com o teor de matéria seca no momento da ensilagem (Tabela 1).

Avaliando os 6 tratamentos experimentais de forma isolada observa-se que o RVC 40:60 inoculante apresentou menor teor entre todos, desta forma contribuindo para a diferença observada. Os resultados obtidos de perdas fermentativas (Tabela 2) e estabilidade aeróbica (Figura 1) reforça que as diferenças encontradas estão relacionadas com o perfil nutricional dos tratamentos no momento da ensilagem.

Entretanto foi observado maior teor de proteína bruta, extrato etéreo e amido para as silagens de dieta total inoculadas. A manutenção do conteúdo nutricional nestes tratamentos parte do fato que inoculantes contendo bactérias ácido-láticas (BAL) homofermentativas,



como *Enterococcus faecium*, e espécies de *Pediococcus*, além de BAL heterofermentativas facultativas (*Lactobacillus plantarum*) (HOLZER et al., 2003), têm por intuito aumentar a população destes microrganismos no silo. A expectativa é que esses microrganismos dominem o processo fermentativo e preservem maior quantidade de nutrientes nas silagens, devido à rápida produção de ácido láctico e, conseqüente queda do pH (FILYA, 2003).

Muck e Kung (1997) resumiram os resultados de estudos realizados com o uso de inoculantes contendo bactérias lácticas entre os anos de 1990 e 1995 e verificaram que em 221 experimentos, 60% dos casos houve menor pH e maior fermentação láctica; também em similar percentagem houve menor produção de amônia, mostrando melhor preservação da proteína. Os maiores valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro apresentados pelo tratamento RVC 50:50 estão relacionados com o melhor equilíbrio nutricional para este tratamento, visto que dietas baixas em fibra e que tendem a ter altas taxas de digestão e produção de ácidos graxos voláteis geram um pH ruminal baixo (<6,0), que exerce efeitos negativos nos microrganismos celulolíticos do rúmen, podendo inclusive diminuir a população de bactérias amilolíticas (MARTIN et al., 2002; NAGARAJA & TITGEMEYER, 2007). Assim, dietas com alta proporção de concentrado além de influenciar a população de microrganismos ruminais, podem também diminuir a digestibilidade da dieta.

#### **4.4. Perfil fermentativo**

A redução da concentração de N-NH<sub>3</sub> apresentada pelos tratamentos acrescidos de inoculante bacteriano está relacionado com as maiores concentrações de lactato apresentados (Tabela 4). A inclusão de grandes quantidades de bactérias do ácido láctico homofermentativas com crescimento rápido e produção de lactato, leva a uma queda acentuada no pH (Figura 1), aumentando a capacidade de fermentar carboidratos simples (glicose e frutose) de forma homofermentativa, reduzindo bruscamente a atividade proteolítica dos materiais ensilados (DA SILVA et al., 2017). Esse maior potencial de acidificação pode ter inibido rapidamente a atividade proteolítica microbiana e vegetal (MUCK, 1988), resultando em uma menor concentração de amônia.

De modo geral a maior concentração de ácidos orgânicos apresentados para os materiais inoculados estão relacionados com a potência de produção de ácido láctico do *Pediococcus acidilactici* associado com características homofermentativas facultativas do *Lactobacillus plantarum* (FILYA, 2003) e a grande quantidade de carboidratos solúveis presentes nas silagens de dieta total (GUSMÃO et al. 2018). As maiores concentrações de etanol provavelmente estão associadas a fermentação homofermentativa facultativa de carboidratos simples.

A influência da relação volumoso:concentrado no perfil fermentativo está relacionado com a redução e/ou aumento dos teores de carboidratos solúveis no momento da ensilagem dos materiais (Tabela 1). Onde os tratamentos RVC 60:40 apresentou maiores concentrações de acetato, ácidos graxos totais e pH, conseqüentemente menores de lactato, resultado justificado pela concentração de amido (Tabela 3) e contagem de bactérias ácido lácticas (Tabela 5).

A associação entre o *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus plantarum* com o melhor equilíbrio nutricional do tratamento RVC 50:50 proporcionou maior produção de ácido propiônico resultado evidenciado pela melhor estabilidade aeróbia (Figura 1, 2 e 3) apresentado por este tratamento e também pelas baixas contagem de fungos (Tabela 5) apresentados por este tratamento. De acordo com Balasubramanian e Subramanian (2019), em condições de abundância de carboidratos simples e solúveis o *Lactobacillus plantarum* através da via do acrilato pode ter uma importante produção de ácido propiônico, corroborando com o exposto até o presente momento.

#### **4.5. Perfil microbiológico**

As contagens de fungos apresentadas pelas silagens tratadas com inoculante bacteriano estão de acordo com as concentrações de lactato e propionato (Tabela 4) apresentado por estes materiais. A diminuição no teor de oxigênio e o acúmulo de ácido láctico decorrente das fermentações pelas bactérias ácido lácticas resultam em queda do pH, inibem o crescimento de microrganismos. Ranjit e Kung Jr. (2001) obtiveram menores valores numéricos de leveduras, fungos em silagens tratadas com cepas de *Lactobacillus plantarum* do que em silagens que não tiveram inoculação.

As maiores contagens de bactérias ácido lácticas e menores de fungos (Tabela 5) para o tratamento RVC 50:50 estão de acordos com os resultados obtidos na estabilidade aeróbia (Figuras 1, 2 e 3), pH e concentrações de ácidos orgânicos apresentados (Tabela 4), provavelmente o melhor equilíbrio nutricional deste tratamento (Tabela1) acrescidos do inoculante microbiano propiciou melhor meio de cultura para o crescimento maximizado do *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*, podendo desta forma expressar fermentação homolática adequada para inibição de microrganismos indesejáveis, bem como conservação ideal das característica nutricionais ( Tabela 3) dos materiais ensilados.

### **5. CONCLUSÃO**

A silagem de dieta total RVC 50:50 acrescida de inoculante microbiano apresentou melhor perfil fermentativo, melhor manutenção das características nutricionais após abertura

dos silos e maior estabilidade aeróbia, desta forma recomenda-se a utilização desta relação volumoso:concentrado na confecção de silagens de ração em mistura total.

## 6. REFERÊNCIAS

- AOAC, Association of official agricultural chemists. **Official Method of Analysis**. (17th ed), 2000.
- BALASUBRAMANIAN, S.; SUBRAMANIAN, R. Metabolic perturbation of acrylate pathway in *Lactobacillus plantarum*, **Biocatalysis and Biotransformation**, 37:4, 310-316, 2019.
- CASALI, A. O., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. C. PEREIRA, J. C., CUNHA, M., DETMANN, K. S. C., & PAULINO, M. F. (2009). Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38, 130-138.
- DA SILVA, E. B. R. M.; SAVAGE, S. A.; POLUKIS, M. L.; SMITH, A. M.; GRAY, R. N.; MESTER, AND L. KUNG JR. Effectiveness of a chemical additive on improving the aerobic stability of corn silage after short periods of ensiling. **J. Dairy Sci.** 100(Suppl. 2):263. (Abstr.), 2017.
- DING, M.I., KOIZUMI, H., SUZUKI, Y. Comparison of three chromatographic systems determination of organic acids in wine. **Analytical Sciences**, v. 11, p. 239–243, 1995.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; VAN WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.56, n.4, p.330-343, 2001.
- ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, n.9, p.1768-1771, 1961.
- FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. **J. Appl. Microbiol.** 95:1080–1086, 2003.
- FITZSIMONS, A.; DUFFNER, F.; CURTIN, D.; BROPHY, G.; O'KIELY, P. AND O'CONNELL, M. Assessment of *Pediococcus acidilactici* as a Potential Silage Inoculant. **Applied and Environmental Microbiology**, p.3047-3052, 1992.
- FOLDAGER, J. **Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation**. Ph.D. thesis, East Lansing - Michigan State University, 1977.
- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage Fiber Analysis. Washington, DC: **USDA**, 1970.
- GUSMÃO, J. O.; DANES, M. A. C.; CASAGRANDE, D. R.; BERNADES, T. F.; Total mixed ration silage containing elephant grass for small-scale dairy farms. **Grass Forage Sci.**;1–10, 2017.
- HAIGH, P. M. Effluent production from grass silages treated with additives and made in large-scale bunker silos. **Grass and Forage Science**, 54, 208–218, 1999.

- HENDRIX, D. L. Rapid Extraction and Analysis of Nonstructural Carbohydrates in Plant-Tissues. **Crop Science**, v. 33, p. 1306–1311, 1993.
- HOFFMAN, P. C. N. M.; ESSER, R. D.; SHAVER, W. K.; COBLENTZ, M. P.; SCOTT, A. L.; BODNAR, R. J.; SCHMIDT, AND R. C. CHARLEY. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starchprotein matrix in high-moisture corn. **J. Dairy Sci.** 94:2465–2474, 2011.
- HOLDEN, L. A. Comparison of methods of in vitro matter digestibility for ten feeds. **J. Dairy Sci.**, 82(8):1791-1794, 1999.
- HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; DANNER, H.; BRAUN, R. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 21, p. 282–287, 2003.
- JOBIM, C. C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 101–119, 2007.
- KLEINSCHMIT, D. H.; R. J. SCHMIDT AND L. KUNG JR. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **J. Dairy Sci.** 88:2130–2139, 2005.
- KULASEK, G. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood and blood cells using urease and phenol reagent. **Polskie Archiwum Weterynaryjne**, v.15, n.4, p.801-810, 1972.
- KUNG L.; STOKES M. R. and LIN C. J. Silage additives. In: Buxton D.R., Muck R.E. and Harrison J.H., (eds) **Silage science and technology**. pp. 305–360. Madison, WI, USA: Agronomy Publication No 42, American Society of Agronomy, 2003.
- MARTIN, C.; FONTY, G. AND MICHALET-DOREAU, B. Factors affecting the fibrolytic activity of the digestive microbial ecosystems in ruminants, p. 1–17. In S. A. Martin (ed.), **Gastrointestinal microbiology in animals. Research Signpost**, Trivandrum, Kerala, India. 2002
- MUCK, R. E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, 71, 2992–3002, 1988.
- MUCK, R. E.; KUNG JR., L. Effects of silage additives on ensiling. In: **SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK**. NRAES-99, Herchey, 1997. Proceedings... Herchey:NRAES, p. 187-199, 1997.
- NAGARAJA, T. G. AND TITGEMEYER, E. C. Ruminant Acidosis in Beef Cattle: The Current Microbiological and Nutritional Outlook 1, 2. **Journal of Dairy Science**. V. 90, Pages E17-E38, 2007.
- NISHINO, N., HARADA, H., SAKAGUCHI, E., Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. **Journal of Science**. V.83, p.557-563, 2003a
- NISHINO, N., WADA, H., YOSHIDA, M., SHIOTA, H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.2563–2570, 2004.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Seventh Revised Edition. Washington, D.C. p. 381, 2001.

RANJIT, N. K.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **J. Dairy Sci.** 83:526–535, 2001.

RODRIGUES, P. H. M. et al. Efeitos da Adição de Inoculantes Microbianos sobre a Composição Bromatológica e Perfil Fermentativo da Silagem de Sorgo Produzida em Silos Experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2373–2379, 2002.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997, 295p.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Grass Forage Science**. v. 18, p. 104–111, 1963

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583–97, 1991.

WANG, F., NISHINO, N., Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. **Journal of Science Food Agriculture**. v.88, p.133–140, 2008.

### **CAPÍTULO III**

Silagem de dieta total com inclusão de ácidos orgânicos para vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite

## **Silagem de dieta total com inclusão de ácidos orgânicos para vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite.**

Hayne Mayumi Cariolano Araki\*, Rafael Henrique T. B. Goes\*, Jefferson Rodrigues Gandra\*

\*Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados-Itahum km 12, Dourados, Brasil. 79804-970

### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros produtivos de vacas leiteiras em lactação recebendo silagem de dieta total e inclusão de ácidos orgânicos. Foram utilizadas seis vacas da raça Jersey com peso corporal médio de 400 kg, dias em lactação de 100 dias e produção de leite corrigida de 20 kg dia<sup>-1</sup>. Os animais foram dispostos em dois quadrados latinos 3x3. As dietas experimentais foram: 1- controle (silagem de milho + concentrado); 2- silagem de TMR (silagem de dieta total); 3- silagem de TMR + ácido orgânico (silagem de dieta total + 2 ml kg<sup>-1</sup> de MN de ProMyr™ TMR Performance, 50-60% de ácido propiônico; 15-20% de ácido fórmico; 1- 5% de propionato de sódio; 1- 5% de propionato de glicerol; 15-25% de glicerol). Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC MIXED do SAS 9.4. Os animais que receberam silagem de dieta total apresentaram menor consumo de matéria seca, orgânica, amido e FDN e não foi observado diferenças para os animais que receberam silagem de dieta total com e/ou sem adição de ácidos orgânicos. As silagens de dieta total influenciaram negativamente a digestibilidade da proteína bruta e amido. Os animais alimentados com silagem de dieta total apresentaram menor produção de leite e corrigida em relação ao controle, porém vacas suplementadas com ácidos orgânicos na silagem de dieta total apresentaram maior produção de leite e corrigida em relação as não suplementadas. Ressalva-se que seja necessário mais estudos científicos para a utilização da silagem de dieta total em gados leiteiros.

**Palavras-chaves:** ruminantes, propiônico, fórmico, gado leiteiro

**ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the productive parameters of lactating dairy cows receiving total diet silage and inclusion of organic acids. Six Jersey cows with an average body weight of 400 kg, days in lactation of 100 days and corrected milk production of 20 kg / day were used. The animals were arranged in two 3x3 Latin squares. The experimental diets were: 1- control (corn silage + concentrate); 2- TMR silage (total mixed feed silage); 3- TMR silage + organic acid (total mix feed silage + 2ml per kg of ProMyr™ TMR Performance MN, 50-60% propionic acid; 15-20% formic acid; 1- 5% propionate sodium; 1- 5% glycerol propionate; 15-25% glycerol). The data were submitted to analysis of variance using the PROC MIXED of SAS 9.4. The animals that received total diet silage showed lower consumption of dry matter, organic matter, starch and NDF and no differences were observed for animals that received total diet silage with and / or without the addition of organic acids. The total diet silages negatively influenced the digestibility of crude protein and starch. The animals fed with total diet silage showed less milk production and corrected in relation to the control, however cows supplemented with organic acids in the total diet silage showed higher milk production and corrected in relation to the non-supplemented ones. It should be noted that further scientific studies are necessary for the use of total diet silage in dairy cattle.

**Keywords:** ruminants, propionic, formic, dairy cattle



## 1. INTRODUÇÃO

A silagem de dieta total (TMR) composta por coprodutos, concentrados e silagens tem sido uma opção muito utilizada nos países asiáticos para a alimentação de ruminantes. Uma das grandes vantagens do uso da silagem de TMR na fazenda é o acesso diário a uma alimentação equilibrada e uniforme, além da facilidade de mão-de-obra (WANG e NISHINO, 2008). Tem como característica a homogeneização da dieta, evitando a seleção do alimento pelos ruminantes e, por consequência, proporciona uma condição ruminal estável (HOSODA et al., 2019). Segundo Cao et al. (2009), a silagem de TMR aumentou a digestibilidade dos nutrientes e diminuiu a emissão de metano ruminal, podendo contribuir para a conversão do ácido láctico em ácido propiônico no rúmen.

Segundo Kung et al., (2003), o ácido fórmico é classificado como um inibidor de fermentação. Pode causar uma acidificação e supressão direta de bactérias indesejadas, melhorado, assim, a preservação da silagem. O ácido fórmico restringe a fermentação e a degradação de proteínas durante a ensilagem o que pode ter um efeito positivo no desempenho animal (WINTERS et al., 2001). A melhor combinação para a qualidade da fermentação, estabilidade aeróbica aceitável e melhor potencial de ingestão de silagem foi alcançada usando aditivos a base de ácido fórmico em silagens de baixa MS (SEPPALA et al., 2016).

O ácido propiônico melhora a estabilidade aeróbica da silagem na alimentação através da inibição direta de leveduras e bolores e tem a maior atividade antimicótica (AUERBACH et al., 2012; WOOLFORD, 1975). A utilização de produtos adicionados nas forragens no momento da ensilagem com o objetivo de melhorar a estabilidade aeróbica contém vários ingredientes ativos e o ácido propiônico geralmente constitui a maior porcentagem desses ingredientes. As taxas de aplicação desses produtos são relativamente baixas (0,3 a 0,6% da MS). Além disso, vários produtos foram projetados para serem adicionados a silagens ou TMR imediatamente antes da alimentação para evitar aquecimento e deterioração da alimentação (KUNG e MUCK., 1997).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da silagem de TMR com a inclusão de ácidos orgânicos em relação ao consumo, digestibilidade e produção de leite em vacas leiteiras em lactação. Portanto, a hipótese do trabalho é que com a inclusão de ácidos orgânicos na silagem de dieta total melhora do desempenho produto de vacas em lactação.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no período de setembro a novembro de 2018 no setor de nutrição animal da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados, cidade de Dourados, MS.

### **2.1. Animais e dieta**

Foram utilizadas seis vacas da raça Jersey com lactação induzida, peso corporal médio de 400 kg, dias em lactação de 100 dias e produção de leite corrigida de 20 kg dia<sup>-1</sup>, onde foram mantidas em baias individuais com piso cimentado com cocho e bebedouro. As dietas foram balanceadas de acordo com o NRC (2001) (Tabela 6) e eram fornecidas duas vezes ao dia, às 12 horas e às 16 horas. A água era fornecida à vontade. Os animais foram dispostos em dois quadrados latinos 3x3 simultâneos. O período experimental foi de 51 dias onde cada período teve 17 dias, sendo 12 dias de adaptação e 5 de colheita de dados.

As dietas experimentais foram: 1- controle (silagem de milho com adição de inoculante + concentrado); 2- silagem de dieta total (TMR) com adição de inoculante; 3- silagem de TMR com adição de inoculante + ácido orgânico (silagem de dieta total + 2 ml kg<sup>-1</sup> de MN de ProMyr™ TMR Performance, 50-60% de ácido propiônico; 15-20% de ácido fórmico; 1- 5% de propionato de sódio; 1- 5% de propionato de glicerol; 15-25% de glicerol). A dosagem de ácido orgânico foi administrada de acordo com as recomendações do fabricante e foi corrigida diariamente de acordo com o consumo do dia. A relação volumoso:concentrado para as silagens de TMR foram definidas de acordo com o capítulo II, sendo a relação de 50:50.

**Tabela 6.** Composição nutricional da dieta.

Item	Dieta experimental <sup>1</sup>	
	Controle	Silagem dieta total
Ingredientes (%)		
Silagem de milho	50,00	-
Milho planta verde <sup>2</sup>	-	50,00
Milho fubá	28,40	28,40
Grão de soja	17,00	17,00
Ureia protegida <sup>3</sup>	1,60	1,60
Núcleo mineral <sup>4</sup>	3,00	3,00
<b>Composição nutricional (g/kg MS)</b>		
Matéria seca	609,39	576,29
Matéria orgânica	941,76	945,38
Cinzas	58,24	54,62
Proteína bruta	173,00	177,31
Extrato etéreo	57,11	60,79
FDN	413,42	400,01
FDA	192,09	173,77
Lignina	37,69	47,11
Amido	375,16	350,28
CNF	298,22	369,27
NDT <sup>5</sup>	640,80	689,42
EL <sub>L</sub> (Mcal/kg MS) <sup>6</sup>	1,45	1,57

<sup>1</sup>Dieta controle, silagem de dieta total (correspondente ao tratamento RVC 50:50 do ensaio anterior). <sup>2</sup>Planta de milho verde variedade BIOMATRIX BM 361, colhido aos 110 dias. <sup>3</sup>Biopolímero equivalência proteica de 250%. <sup>4</sup>Níveis de garantia (Kg/produto): Cálcio: 120,00 g, Fósforo: 88,00 g, Iodo: 75,00 mg, Manganês: 1300,00 mg, Sódio: 126,00 g, Selênio: 15,00 mg, Enxofre: 12,00 mg, Zinco: 3630,00 mg, Cobalto: 55,50 mg, Cobre: 1530,00 mg e Ferro: 1800,00 mg. <sup>5,6</sup>Calculado de acordo com o (NRC 2001).

## 2.2. Análises bromatológicas

Amostras de alimentos, sobras e silagem de dieta total foram pesadas e levadas para a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55 °C durante 72 horas e posteriormente foram moídas em moinho de facas até a obtenção de partículas de 1mm. Foram armazenadas em potes de plástico para a determinação de MS (método 950.15), cinzas (método 942.05) e proteína bruta (PB, N × 6.25, método Kjeldahl 984.13) e lignina (método 973.18), conforme a metodologia descrita por AOAC (2000), e matéria orgânica (MO, 1000-cinzas). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991) e o teor de amido conforme metodologia descrita por Hendrix (1993). As concentrações em carboidratos não-fibrosos (CNF) foram obtidas a partir da equação: CNF = 100 – (%PB +

%EE + %cinzas + %FDN). Os nutrientes digestíveis totais foram calculados conforme equações de Weiss et al. (1992), descritas no NRC (2001), em que:  $NDT = CNF_d + PB_d + (AG_d * 2,25) + FDN_d - 7$ , onde  $PB_d$ ,  $CNF_d$ ,  $FDN_d$  e  $AG_d$  representam o total destes nutrientes digestíveis. O teor de energia líquida foi estimado através da equação estabelecida pelo NRC (2001), em que  $EL$  (Mcal/kg) =  $0,0245 * NDT$  (%) - 0,12.

### **2.3. Consumo e digestibilidade**

Diariamente foram feitas pesagens da quantidade da silagem de TMR, silagem de milho, concentrado e das sobras de cada tratamento com a finalidade de estimativa do consumo. Durante o fornecimento, o volumoso, o concentrado e a silagem de TMR + ácido orgânico foram homogeneizadas no cocho e fornecidos de forma completa. Para a avaliação do consumo, as sobras da dieta foram pesadas diariamente sendo ajustado o fornecimento para um consumo ad libitum com sobras calculadas em 10%. Os animais foram arraçoados duas vezes ao dia, às 6:30 e às 12:30 horas.

Para estimativa da digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes, amostras de fezes foram coletadas no 13º e 14º dia de cada período experimental. As amostras obtidas foram homogeneizadas para compor uma amostra composta de cada animal em cada período. As amostras de fezes coletadas foram pré-secas em estufa com ventilação forçada (60°C/72 horas) e processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 1 mm. Posteriormente estas amostras foram analisadas quanto a MS, MO, PB, EE e FDN, de acordo com a metodologia anteriormente descrita para análise de alimentos.

### **2.4. Produção e composição do leite**

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, às 6h00 e às 16h00, sendo a produção de leite (PL) registrada diariamente durante todo o período experimental e a produção média considerada apenas dos últimos sete dias de cada período. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo fórmula de Sklan et al. (1992), onde  $PLC = (0,432 + 0,163 * G\%) * PL$ .

As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram obtidas no 13º, 14º e 15º dias de cada período experimental, na qual cada amostra proveniente das duas ordenhas diárias, com amostragens proporcionais. Foram determinados os teores de gordura, proteína e lactose, utilizando o equipamento LACTOSCAN®

## 2.5. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.4, SAS Institute, Cary, NC 2015), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + C_k + D_l + e_{ijkl}$$

onde:  $Y_{ijkl}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito de animal ( $j = 1$  a  $6$ ),  $P_j$  = efeito do período ( $y = 1$  a  $3$ ),  $C_k$  = efeito do quadrado ( $k = 1$  to  $2$ ),  $D_l$  = efeito de dieta ( $l = 1$  a  $3$ ) e  $e_{ijkl}$  = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por:  $A_i$  e  $P_j$ . Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM = kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.4 (SAS, 2015) e analisados por contrastes ortogonais, sendo C1 (controle vs silagem de dieta total) e C2 (silagem de dieta total vs silagem de dieta total + ácido orgânico) adotando-se nível de significância de 5%

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes

Os animais que receberam silagem de dieta total apresentaram menor ( $P \leq 0,034$ ) consumo de matéria seca, orgânica, amido e FDN (kg dia<sup>-1</sup> e % peso vivo). Não foi observado diferenças ( $P \geq 0,135$ ) para os animais que receberam silagem de TMR com e/ou sem adição de ácidos orgânicos (Tabela 7). As vacas que receberam dieta controle apresentaram consumo de matéria seca (15,30 vs 12,84 kg dia<sup>-1</sup>), amido (6,24 vs 3,55 kg dia<sup>-1</sup>) em relação aos animais alimentados com silagem de dieta total.

**Tabela 7.** Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM	P-valor <sup>3</sup>	
	CON	TMR	TMR+ac		C1	C2
	<i>kg dia<sup>1</sup></i>					
Matéria seca	15,30	13,02	12,66	0,652	0,010	0,684
Matéria orgânica	12,04	10,50	9,95	0,579	0,034	0,538
Proteína bruta	1,72	1,88	1,84	0,089	0,489	0,898
Amido	6,24	3,66	3,44	0,358	<,0001	0,531
FDN	4,12	2,87	2,47	0,275	0,002	0,349
	<i>% peso vivo</i>					
Matéria seca	3,43	3,19	2,72	0,177	0,071	0,135
FDN	1,05	0,839	0,649	0,075	0,018	0,176
	<i>Digestibilidade (g/kg)</i>					
Matéria seca	707,74	681,97	657,32	23,23	0,375	0,633
Matéria orgânica	706,07	714,95	681,72	20,80	0,855	0,528
Proteína bruta	798,63	672,04	612,79	31,86	0,005	0,268
Amido	968,58	956,59	954,87	3,109	0,028	0,776
FDN	614,35	617,99	551,36	35,15	0,697	0,478

<sup>1</sup>CON (silagem de milho + concentrado). TMR (silagem de dieta total). TMR+ac (silagem de dieta total + 2 ml kg<sup>1</sup> de MN de ProMyr™ TMR Performance). <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média).

<sup>3</sup>Contrastes ortogonais C1 (controle vs silagem de dieta total); C2 (silagem de dieta total vs silagem de dieta total+ ácido orgânico).

As silagens de dieta total influenciaram negativamente ( $P \leq 0,028$ ) a digestibilidade da proteína bruta e amido. Entretanto não foi observado diferenças ( $P \geq 0,268$ ) para a digestibilidade da matéria seca e nutrientes para os animais alimentados com silagem de dieta total. As vacas que receberam dieta controle apresentaram digestibilidade da proteína bruta (798,63 vs 642,41 g/kg), amido (968,58 vs 955,73g/kg) em relação aos animais alimentados com silagem de dieta total.

### 3.2. Produção e composição do leite

Os animais alimentados com silagem de dieta total apresentaram menor ( $P \leq 0,019$ ) produção de leite e corrigida em relação ao controle. De mesma forma as vacas suplementadas com ácidos orgânicos na silagem de dieta total apresentaram maior produção de leite e corrigida em relação as não suplementadas. Não foi observado ( $P > 0,05$ ) efeito das dietas experimentais para a composição do leite (kg dia<sup>1</sup> ou %) para os dois contrastes avaliados.

**Tabela 8.** Produção e composição de leite de acordo com as dietas

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM	P-valor <sup>3</sup>	
	CON	TMR	TMR+ac		C1	C2
	<b><i>Kg dia1</i></b>					
Produção de Leite	15,91	14,35	15,43	0,645	0,019	0,006
Produção de leite corrigida	19,11	17,31	18,43	0,857	0,022	0,004
Gordura	0,753	0,684	0,724	0,036	0,292	0,449
Proteína	0,520	0,484	0,501	0,021	0,406	0,647
Lactose	0,804	0,737	0,791	0,035	0,450	0,377
	<b><i>Porcentagem (%)</i></b>					
Gordura	4,72	4,75	4,65	0,084	0,902	0,662
Proteína	3,29	3,37	3,24	0,043	0,825	0,139
Lactose	5,04	5,10	5,14	0,070	0,599	0,812
	<b><i>Mcal/dia</i></b>					
Energia corrigida	18,70	17,03	18,03	0,821	0,256	0,393
	<b><i>Eficiência</i></b>					
PL/CMS <sup>4</sup>	1,07	1,12	1,22	0,052	0,049	0,086
PLC/CMS <sup>5</sup>	1,28	1,35	1,45	0,069	0,050	0,128
ECM/CMS <sup>6</sup>	1,26	1,33	1,42	0,065	0,050	0,174

<sup>1</sup>CON (silagem de milho + concentrado). TMR (silagem de dieta total). TMR+ac (silagem de dieta total + 2 ml kg<sup>-1</sup> de MN de ProMyr<sup>TM</sup> TMR Performance). <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>3</sup>Contrastes ortogonais C1 (controle vs silagem de dieta total); C2 (silagem de dieta total vs silagem de dieta total+ ácido orgânico). <sup>4</sup>PL/CMS = Produção de leite (kg dia<sup>-1</sup>) /consumo de matéria seca (kg dia<sup>-1</sup>). <sup>5</sup>PLC/CMS = Produção de leite corrigida para 3.5% de gordura (kg dia<sup>-1</sup>) /consumo de matéria seca (kg dia<sup>-1</sup>). <sup>6</sup>ECM/CMS = Energia corrigida (Mcal/dia) /consumo de matéria seca (kg dia<sup>-1</sup>).

As vacas que receberam silagem de dieta total foram mais eficientes ( $P \leq 0,05$ ) (PL/CMS, PLC/CMS e ECM/CMS) em relação aos animais alimentados com silagem de milho e concentrado. As vacas que receberam silagem de dieta apresentaram eficiência PLC/CMS (1,28 vs 1,40), ECM/CMS (1,26 vs 1,38) em relação aos animais alimentados com dieta controle.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes

As vacas alimentadas com silagem de milho e concentrado apresentaram consumo de matéria seca 16,07 % superior aos animais que receberam silagem de dieta total, fato que pode ser justificado pela maior concentração de ácidos orgânicos, principalmente lactato e

propionato presente na silagem de dieta total em relação ao controle. O propionato é um potente inibidor do consumo em ruminantes, sua ação hipofágica é pode estar relacionada com a maior taxa de oxidação e glicose e/ou acetil-Coa em nível hepática que via metabólitos secundários estimula os neurônios hipotalâmicos no centro de saciedade (ALLEN & PIANTONI, 2013).

O maior consumo de amido, 43,10% superior para as vacas alimentadas com a dieta controle, está relacionado com o menor consumo de matéria seca e também pelas perdas fermentativas deste nutriente apresentada pelas dietas de silagem de dieta total, visto que a grande maioria do consumo de amido da dieta controle está presente na forma de concentrado da dieta. A concentração de amido em dietas de vacas leiteiras está diretamente relacionada ao consumo de matéria seca (ALLEN, 2000).

A maior digestibilidade da proteína bruta (19,56%) e amido (1,32%) apresentadas pelas vacas que receberam a dieta controle em relação aos animais alimentados com silagem de dieta total provavelmente esteja relacionado como consumo de matéria seca, o próprio consumo destes nutrientes em particular bem como com o nível de produção (Tabela 8) apresentado pelos animais. O impacto da ingestão de amido na digestibilidade do amido no rúmen está altamente correlacionado com nível de consumo e produção de vacas leiteiras visto que alterações na taxa de passagem e digestão podem reduzir ou aumentar a digestão do amido ruminal (MOHARRERY et al. 2014).

#### **4.2. Produção e composição do leite**

A menor produção de leite apresentada pelas vacas alimentadas com a silagem de dieta total está relacionada diretamente com o menor consumo de matéria e digestibilidade do amido (Tabela 7) apresentado por estes animais.

A maior produção de leite corrigida (1,12 kg dia<sup>-1</sup>) apresentada pelas vacas que receberam silagem de dieta total + ácidos orgânicos, provavelmente pode ser justificada pela maior estabilidade aeróbica desta dieta em relação as demais. O acréscimo de ácidos orgânicos em dietas de vacas leiteiras, principalmente com altos teores de amido reduzem a deterioração nutricional da dieta ao longo do dia, mudando o comportamento ingestivo dos animais sem alteração do consumo de matéria seca (GHELLER et al. 2020).

### **5. CONCLUSÃO**

A silagem de dieta total propiciou melhor eficiência produtiva neste estudo, fato que está relacionado a maior redução proporcional do consumo em relação a produção de leite. Estudos avaliando os efeitos de silagem de dieta total na nutrição de ruminantes e principalmente de vacas leiteiras são escassos na literatura, desta forma um maior número de



estudos juntamente com maior número de análises do metabolismo animal precisam ser determinados para que se tenha um melhor embasamento científico e conclusões mais concretas possam ser estabelecidas no âmbito deste tema.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC, 2000. Association of official agricultural chemists. Official Method of Analysis. (17th ed).

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **J Dairy Sci**; 83(7):1598–624, 2000.

ALLEN, M. S AND PIANTONI, P. Metabolic Control of Feed Intake Implications for Metabolic Disease of Fresh Cows. **Vet Clin Food Anim**. V. 29, p. 279-297, 2013.

AUERBACH, H.; K. WEISS, AND E. NADEAU. Benefits of using silage additives. Pages 75–144 in Proc. 1st Int. Silage Summit, Leipzig, Saxony, Germany. H. Auerbach, C. Luckstadt, and F. Weissbach, ed. **Anytime Publishing Services**, Worthington, UK, 2012.

CAO, Y.; TAKAHASHI, T.; HORIGUCHI, K. Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. **Animal Feed Science and Technology**. v.151, p.1-11, 2009.

GHELLER, L. S.; GHIZZI, L. G.; MARQUES, J. A.; TAKIYA, C. S.; GRIGOLETTO, N. T. S., DIAS, M. S. S.; DIAS, T. B. P.; SILVA, A. T.; NUNES, G. G.; DA SILVA, L. G. X.; FERNANDES, L. N.; RENNO, F. P. Effects of organic acid-based products added to total mixed ration on performance and ruminal fermentation of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology** 261, 114406, 2020.

HENDRIX, D. L. Rapid Extraction and Analysis of Nonstructural Carbohydrates in Plant-Tissues. **Crop Science**, v. 33, p. 1306–1311, 1993.

HOSODA, K.; OHMORIB, H.; NAKAMURA, Y.; KAMIYA, M. Effect of inclusion rate of corn silage in ensiled total mixed ration on dry matter intake, nutrient digestibility, and ruminal fermentation in Japanese Wagyu steer. **Livestock Science**, 229, 126–130, 2019.

KUNG, L. JR.; MUCK, R.E. Animal response to silage additives. Proceedings of the Silage: field to feed bunk. NRAES-99. North American conference, Hershey, Pennsylvania February 11–13, 1997. **Northeast Regional Agricultural Engineering Service**, Cooperative Extension, Ithaca, New York, USA pp. 200–210, 1997.

KUNG L.; STOKES M. R. and LIN C. J. Silage additives. In: Buxton D.R., Muck R.E. and Harrison J.H., (eds) **Silage science and technology**. pp. 305–360. Madison, WI, USA: Agronomy Publication No 42, American Society of Agronomy, 2003.

MOHARRERY, A.; LARSEN, M.; WEISBJERG, M. R. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows – A meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology** 192 1–14, 2014.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Seventh Revised Edition. Washington, D.C. p. 381, 2001.

- SEPPÄLÄ, A.; T. HEIKKILÄ, M. MÄKI, AND M. RINNE. 2016. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass Forage Sci.* 71:458–471.
- SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRAUN, A. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. *J. Dairy Sci.*, 75(9):2463-2472, 1992.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v. 74, n. 10, p. 3583–97, 1991.
- WANG, F.; NISHINO, N., Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. *Journal of Science Food Agriculture*. v.88, p.133–140, 2008.
- WINTERS, A. L.; R. FYCHAN, AND R. JONES. Effect of formic acid and a bacterial inoculant on the amino acid composition of grass silage and on animal performance. *Grass Forage Sci.* 56:181–192, 2001.
- WOOLFORD, M. K. Microbiological screening of straight chain fatty acids (C1–C12) as potential silage additives. *J. Sci. Food Agric.* 26:219–228. 1975.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A silagem de dieta total (TMR) é bem estabelecida no continente asiático como alimentação alternativa para ruminantes. No Brasil, há alguns estudos sobre a silagem, porém há poucos relacionados aos animais com fornecimento dessa dieta. É uma alternativa viável onde há muitos resíduos agropecuários que possam ser utilizados como coprodutos na ensilagem do TMR.

Contudo, é necessário mais estudos para conhecer a viabilização para as vacas leiteiras, pois tem poucos estudos científicos sobre a influência da silagem de TMR nos parâmetros produtivos.

Os inoculantes microbianos tem efeitos positivos para as silagens, selecionando bactérias que ajudam na fermentação e evitam a proliferação de bactérias que indesejáveis.

A utilização de ácidos orgânicos tem sido benéfica na ensilagem com a finalidade de preservação, estabilidade aeróbica e efeito antimicrobiano, porém, há poucos estudos científicos sobre a influência dos ácidos orgânicos em relação a silagem de TMR.