

Dinâmica microbiológica da silagem de grão de milho triturado reidratado contendo glicerina bruta e inoculante microbiano¹

Mircéia Angele Mombach², Dalton Henrique Pereira³, Douglas do Santos Pina³, Tainara Cristina Reis Verri Urives⁴, Nágela Maria Faustino da Silva⁵, Odilon Gomes Pereira⁶, Bruno Carneiro e Pedreira⁷, Dheyne Cristina Bolson⁸

¹Parte do trabalho de defesa de dissertação do primeiro autor, financiada pelo CNPq

²Zootecnista, Mestranda do PPGZ/UFMT/Sinop-MT, bolsista CNPq

³Professor Adjunto II, ICAA/UFMT/Sinop – MT. e-mail: daltonhenri@ufmt.br;

⁴Graduanda em Zootecnia – UFMT/Sinop – MT; e-mail: tainaurives@hotmail.com

⁵Graduanda em Zootecnia – UFMT/Sinop – MT. Bolsista PIBIC/CNPq

⁶Professor Adjunto, DZO/UVF, Pesquisador CNPq

⁷Pesquisador Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop-MT

⁸Zootecnista, Mestranda do PPGZ/UFMT/Sinop-MT, bolsista FAPEMAT

Resumo: Avaliou-se o efeito da inclusão de diferentes níveis de glicerina bruta, com ou sem inoculante microbiano sobre as populações microbianas na silagem de grão de milho triturado e reidratado. O grão seco de milho moído, inoculado ou não com inoculante microbiano, foi reidratado com água e glicerina bruta em diferentes níveis para manter o teor de umidade em 32,5%, conferindo a adição de 0; 7,5; 15,0 e 22,5% de glicerina bruta (matéria natural) e ensilado em silos experimentais de PVC. O experimento foi conduzido em esquema fatorial (2x4x6) segundo o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento. As populações de BAL reduziram linearmente e tiveram resposta cúbica negativa nos períodos de fermentação com o aumento nos níveis de glicerina bruta. As populações de enterobactérias e fungos e leveduras também reduziram nos períodos de fermentação com a adição crescente de glicerina bruta. A inclusão de glicerina bruta tem efeito negativo sobre o desenvolvimento de microrganismos na silagem de grão de milho triturado e reidratado.

Palavras-chave: água, bactéria, concentrado, conservação, ensilagem

Microbial dynamic of grinded and rehydrated corn grain silage containing crude glycerin and microbial inoculant

Abstract: We evaluated the effect of different levels of crude glycerin, with or without microbial inoculant on microbial populations in grinded and rehydrated corn grain silage. The dry milled corn grain, inoculated or not with microbial inoculant, was rehydrated with water and crude glycerin in different levels to keep the moisture content of 32,5%, giving the addition of 0, 7.5, 15.0 and 22.5% crude glycerin (natural matter). The experiment was conducted factorial (2x4x6) in a completely randomized design with three replicates for each treatment. The populations of BAL decreased linearly and had cubically negative in fermentation periods with increased levels of crude glycerin. The populations of enterobacteria and fungi and yeasts also reduced in fermentation periods with growing addition of crude glycerin. The inclusion of crude glycerin has a negative effect on the growth of microorganisms in grinded and rehydrated dry corn grain silage.

Keywords: bacterium, concentrated, conservation, ensilage, water

Introdução

O sucesso no processo de conservação de qualquer cultura na forma de silagem depende de vários fatores como, teor de matéria seca no momento da ensilagem, quantidade de carboidratos solúveis, capacidade tamponamento, mas principalmente da microbiota da silagem.

Os inoculantes microbianos são os aditivos mais comuns utilizados nas silagens, isso ocorre, pois estes aditivos são mais seguros, fáceis de usar e não são corrosivos quando comparados a outros produtos. O principal objetivo com o uso destes inoculantes é promover a rápida queda do material ensilado devido à produção de ácido láctico por bactérias ácido-láticas (Muck, 2010).

Apesar deste tipo de aditivo ser adotado em todo o mundo, a sua eficiência depende da quantidade e da qualidade da bactéria adicionada à cultura a ser ensilada, da presença de substrato adequado, da capacidade de tamponamento e principalmente da população epífita da forragem (Zopollatto et al., 2009). Muitas dessas características são desconhecidas para diversas silagens, como a silagem de grão de milho triturado e reidratado.

Diante do exposto, objetiva-se avaliar o efeito da inclusão de diferentes níveis de glicerina bruta, com ou sem inoculante microbiano sobre as populações microbianas na silagem de grão de milho triturado e reidratado.

Material e Métodos

O experimento foi realizado entre os meses de julho/2013 e janeiro/2014 no Laboratório de Nutrição Animal e Forragicultura – ICAA/UFMT/Sinop, MT. O grão de milho seco foi grosseiramente desintegrado em moinho adaptado com peneiras de 5 mm e submetido aos diferentes tratamentos: com e sem inoculante microbiano, reidratado com água e glicerina bruta de forma a manter constante o teor de umidade de 32,5% em todos os tratamentos, conferindo níveis de inclusão de glicerina de 0; 7,5; 15,0 e 22,5% na Matéria Natural (MN). O inoculante microbiano utilizado foi o KERA-SIL Grão úmido (Kera Nutrição Animal) composto de *Lactobacillus plantarum* KN3500 (30×10^9 UFC/g), *Propionibacterium acidipropionici* KN7300 (20×10^9 UFC/g) e lactose P.A e a glicerina bruta foi adquirida da empresa COOPERBIO, localizada no município de Cuiabá – MT.

As silagens foram confeccionadas em silos experimentais de PVC, com 0,1 m de diâmetro e 0,35 m de altura, providos de válvulas do tipo “Bunsen”, os quais foram mantidos em área coberta, à temperatura ambiente, e abertos nos dias 0 (antes do armazenamento), 4, 8, 16, 32 e 64.

Na enumeração dos microrganismos foi adotado o plaqueamento em *pour-plate* e consideradas passíveis de contagem, as placas com valores entre 30 e 300 unidades formadoras de colônias (UFC). A quantificação de bactérias ácido láctico (BAL) foi realizada por meio do plaqueamento em MRS Agar e as placas foram incubadas a 35°C por 72h. O número de enterobactérias (ENT) foi determinado pelo plaqueamento em Violet Red Bile Glucose Agar e as placas foram incubadas a 35°C, por 48h. Fungos e Leveduras (MOFO) foram determinados por meio do plaqueamento em Potato Dextrose Agar, acidificado com ácido tartárico 10% (p/v) e as placas foram incubadas a 25°C pelo tempo de 5 dias.

O experimento foi conduzido segundo o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial ($2 \times 4 \times 6$) com 3 repetições por tratamento, os quais foram: adição ou não de inoculante (com e sem), quatro níveis de glicerina bruta (0; 7,5; 15,0 e 22,5% da MN) e seis períodos de fermentação (0; 4; 8; 16; 32 e 64 dias). Realizou-se a análise de variância (PROC GLM – SAS), sendo os níveis de inclusão de glicerina bruta obtidas através da partição da soma de quadrado de tratamentos em contrastes ortogonais, para avaliar o efeito linear, quadrático e cúbico, respectivamente, sendo adotado o nível de 5% de probabilidade para o erro tipo 1. Para avaliação do efeito de tempo, foram ajustados modelos de regressão polinomiais para avaliação dos efeitos lineares, quadráticos e cúbicos. Sendo os modelos selecionados com base no teste da razão de máxima verossimilhança para identidade de modelos (Cruz e Regazzi, 1994).

Resultados e Discussão

Houve somente efeito de interação ($P < 0,05$) entre glicerina bruta e período de fermentação para as bactérias ácido láctico (BAL), enterobactérias (ENT) e fungos e leveduras (MOFO), cujos valores do desdobramento são apresentados na Tabela 1.

As reduções lineares e os efeitos cúbicos nas populações de BAL nos períodos de fermentação com o incremento nos níveis de glicerina bruta ocorreram, provavelmente, pela influência negativa de algum composto da glicerina sobre seu desenvolvimento. De acordo com Pahlow et al. (2003) as espécies de BAL requerem para o seu crescimento estéres de ácido oleico. Outro fator que pode ter contribuído é o alto valor de pH (6,0) da glicerina bruta.

Contudo, este efeito inibitório da glicerina não é tão evidente até o 4º período de fermentação para ENT. A partir do período de abertura de 8 dias é que houve uma redução linear na população de ENT nos períodos de fermentação em função do aumento nos níveis de glicerina, mas somente os períodos de 32 e 64 dias tiveram equações ajustadas. Os valores observados neste experimento para ENT são superiores ao

valor aproximado de 3,3 log UFC/g encontrado por Penteado et al. (2007) para a silagem de capim-mombaça inoculada com *L. plantarum* epifítico (10^6 UFC/g) após 28 dias de ensilagem.

Tabela 1. Desdobramento da interação dos períodos de fermentação (PF) em função dos níveis de inclusão de glicerina bruta para as populações de bactérias ácido láctico (BAL), enterobactérias (ENT) e fungos e leveduras (MOFO) na silagem de grão de milho triturado e reidratado.

PF (Dias)	Níveis de Glicerina (G, % da MN)				Equação ¹	R ²
	0	7,5	15	22,5		
BAL (Log UFC/g)						
0	5,3	5,24	5,59	5,76	-	-
4	7,39	7,16	2,96	2,02	$\hat{y} = 3,04 - 0,068***G$	0,47
8	7,38	7,47	4,54	2	$\hat{y} = 3,110 - 0,06***G$	0,47
16	6,95	7,33	1,67	0,83	$\hat{Y} = 2,82 + 0,224*G - 0,036*G^2 + 0,001*G^3$	0,71
32	6,75	6,79	0,83	1,67	$\hat{Y} = 2,78 + 0,253*G - 0,043*G^2 + 0,0013*G^3$	0,69
64	3,66	1,96	0	0	-	-
ENT (Log UFC/g)						
0	3,03	5,24	3,85	4,39	-	-
4	6,48	5,62	5,18	5,2	-	-
8	7,23	7,15	4,99	5,32	-	-
16	6,51	6,67	3,43	2,46	$\hat{y} = 7,08 - 0,205***G$	0,51
32	6,7	4,99	2,71	1,78	$\hat{y} = 6,60 - 0,23***G$	0,43
64	0	0	0	0	-	-
MOFO (Log UFC/g)						
0	3,74	4,17	3,96	3,74	-	-
4	5,37	5,4	4,6	4	$\hat{y} = 2,57 - 0,014***G$	0,56
8	5,48	5,48	5,12	3,89	$\hat{Y} = 2,54 + 0,012*G - 0,0012***G^2$	0,89
16	5,46	5,33	5,2	4,66	$\hat{y} = 2,56 - 0,007***G$	0,51
32	4,96	5,08	5,3	4,63	-	-
64	3,95	4,62	4,87	4,73	$\hat{Y} = 2,22 + 0,025**G - 0,0008*G^2$	0,37

As reduções lineares e os efeitos quadráticos negativos nas populações de MOFO nos períodos de fermentação com o aumento da inclusão de glicerina bruta provavelmente ocorreram por meio da competição com as BAL e ENT por carboidratos solúveis, já que estes grupos de microrganismos não são fortemente influenciados pelo pH.

Conclusões

A inclusão de glicerina bruta tem efeito negativo sobre o desenvolvimento de microrganismos na silagem de grão de milho triturado e reidratado.

Literatura citada

- MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39, p.183-191, 2010.
- PAHLOW, G., MUCK, R.E., DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: Buxton, D.R.; Muck, R.E.; Harrison, J.H. (Eds.) **Silage Science and Technology**. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy, p. 31-94, 2003.
- PENTEADO, D.C.S., SANTO, E.M., CARVALHO, G.G.P. et al. Inoculação com *Lactobacillus plantarum* da microbiota em silagem de capim-mombaça. **Archivos de Zootecnia**, 56, p. 191-202, 2007.
- ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.170-189, 2009 (supl. especial)