

PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NA SILAGEM DE GRÃOS ÚMIDOS DE MILHO ENSILADO COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE SABUGO¹

CLÓVES CABREIRA JOBIM², RICARDO ANDRADE REIS³, LUIS ROBERTO DE ANDRADE RODRIGUES⁴
e RUBEN PABLO SCHOCKEN-ITURRINO⁵

RESUMO - Avaliou-se, na Universidade Estadual Paulista (UNESP) em Jaboticabal, a presença de microrganismos nas silagens de grãos úmidos de milho. Os tratamentos constaram de cinco porcentagens de sabugo na silagem (0, 5, 10, 15 e 20% na matéria verde) e quatro períodos de amostragem após a abertura dos silos (0, 2, 4 e 6 dias), em esquema fatorial, num delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. O crescimento de lactobacilos foi maior na silagem exclusiva de grãos. A presença de clostrídeos diferiu entre os tratamentos, com valores entre 1,30 e 3,32 log UFC/g de silagem. A presença de leveduras e enterobactérias aumentou em função das proporções de sabugo e dos períodos de amostragem. A população de lactobacilos foi satisfatória para uma boa fermentação das silagens, e a presença do sabugo favoreceu o desenvolvimento de clostrídeos, leveduras e enterobactérias após a abertura dos silos.

Termos para indexação: *Lactobacillus*, *Clostridium*, leveduras, enterobactérias, amostragem.

MICROORGANISMS IN THE HIGH-MOISTURE CORN GRAIN SILAGE WITH DIFFERENT PROPORTIONS OF THE COB

ABSTRACT - This experiment was carried out in the Microbiology Laboratory of UNESP-Jaboticabal, to evaluate the different species of microorganisms in high-moisture corn grain silage. The treatments were five percentages of corn cob in the silage (0, 5, 10, 15 and 20% DM) and four sampling periods after the opening of the silos (0, 2, 4 and 6 days), using a factorial arrangement in randomized block design with three replications. The growth of *Lactobacillus* was higher ($P < 0.01$) in the silage prepared only with grains in relation to the other treatments. The presence of *Clostridium* differed ($P < 0.01$) among the treatments, with values ranging from 1.30 and 3.32 log CFU/g of silage. It was concluded that the population of *Lactobacillus* was satisfactory to obtain a good fermentation of the silages, and the presence of corn cob facilitated the development of *Clostridium* and also of yeast and *Enterobacteriaceae* after the silos were opened.

Index terms: *Lactobacillus*, *Clostridium*, yeast, enterobacteria, sampling.

INTRODUÇÃO

A qualidade de uma silagem depende, basicamente, do material ensilado e do tipo de microrganismo que atuará durante o processo de fermentação e após a abertura dos silos.

Para que haja uma rápida acidificação da massa ensilada é necessário, além do substrato adequado, uma população de bactérias satisfatória, principalmente de *Lactobacillus*. Além desses microrganismos desejáveis, poderá haver a proliferação de microrganismos prejudiciais à qualidade da silagem, como, por exemplo, bactérias do gênero *Clostridium*, enterobactérias, fungos e leveduras, que podem também acarretar problemas sanitários aos animais (Muck, 1988). Esse aspecto é de grande importância para a estabilidade da silagem, determinada pela fermentação aeróbica que ocorre após a abertura dos silos.

Segundo Mathinson et al. (1989), um dos principais problemas para maximizar o valor alimentício

¹ Aceito para publicação em 11 de setembro de 1996.

² Zoot., Dr., Prof., Dep. Zoot., Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 3690, CEP 87020-900 Maringá, PR.

³ Zoot., Dr., Prof., Dep. Nutrição Animal e Pastagens, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rod. Carlos Tonnan Km 5, CEP 14870-000 Jaboticabal, SP.

⁴ Eng. Agr., Dr., Dep. Nutrição Animal e Pastagens, UNESP.

⁵ Eng. de Alim., Dr., Prof., Dep. Microbiologia, UNESP.

da silagem de grãos úmidos, é a susceptibilidade à deterioração aeróbica (pós-fermentação). Ressalta-se (Muck et al., 1991) que a deterioração da silagem está associada principalmente ao desenvolvimento de fungos e leveduras, que apresentam alta resistência às variações de pH, e, no caso das leveduras, sobrevivem em meio anaeróbico. As leveduras provocam grande liberação de CO₂ pelo metabolismo dos açúcares, resultando em perdas de MS, além de a liberação de calor provocar aumento na concentração dos produtos da reação de "Maillard".

O objetivo do presente experimento foi o de avaliar a presença dos principais microrganismos que atuam no processo fermentativo durante a ensilagem, e na deterioração aeróbica após a abertura dos silos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia da UNESP, em Jaboticabal. Os tratamentos consistiram de cinco porcentagens do sabugo na silagem de grãos úmidos de milho (0, 5, 10, 15 e 20 % na matéria verde) e de quatro períodos de amostragem após a abertura dos silos (0, 2, 4 e 6 dias), arranjos em esquema fatorial, num delineamento inteiramente casualizado, com três repetições.

Ao atingir o ponto determinado para ensilagem (grãos com 60 a 65 % matéria seca), o milho foi colhido manualmente e debulhado em trilhadeira estacionária. A variedade de milho empregada foi a Germinal 500 (G500). As porcentagens do sabugo na matéria verde (MV) foram obtidas pela adição de grãos aos tratamentos com 5, 10 e 15% do sabugo, até atingir o percentual desejado, uma vez que a variedade de milho utilizada apresentou 20% de sabugo na espiga sem brácteas. Logo a seguir, o material foi moído, passado em peneira com crivos de 1,0 cm, e acondicionado em silos de PVC com capacidade para 10 kg de silagem, que permaneceram vedados durante 70 dias.

Após a abertura dos silos, foram realizadas amostragens nos tempos pré-estabelecidos para contagem de microrganismos, como segue: enterobactérias e lactobacilos, segundo o método de Jonsson (1991), clostrídeos (Tosi et al., 1982) e leveduras (Tengerdy et al., 1991). As amostragens constaram da retirada de uma camada de aproximadamente 5 cm de silagem da superfície exposta de cada silo.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância, de acordo com o delineamento estatístico adotado. Para comparação entre médias, empregou-se o teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento de clostrídeos (Tabela 1) foi menor ($P < 0,01$) na silagem exclusiva de grãos em relação ao dos tratamentos com 10 e 15% de sabugo. Embora a silagem com 5 e 20% de sabugo não tenha apresentado diferença ($P < 0,01$) na população de clostrídeos, em relação à silagem de grãos, observa-se que a presença do sabugo favoreceu o desenvolvimento desses microrganismos. Isto pode ser atribuído à menor população de lactobacilos (Tabela 1) nessas silagens, em relação à silagem exclusiva de grãos, o que pode ter resultado em uma acidificação mais demorada, e, ao aumento no teor de umidade das silagens com sabugo, o que beneficiaria o desenvolvimento dos clostrídeos (Mahanna, 1994).

Muck (1988) destaca que o pH final após a fermentação é de grande importância para assegurar o não-crescimento de bactérias do gênero *Clostridium*. Porém, um pH final baixo não é garantia de que a atividade dos clostrídeos tenha sido evitada. Isto somente pode ser assegurado com a rápida obtenção de um pH baixo.

TABELA 1. Presença de bactérias dos gêneros *Clostridium* e *Lactobacillus* nas silagens de grãos úmidos de milho¹.

Bactérias	Sabugo nas silagens (%)					Coef. de variação
	0	5	10	15	20	
<i>Clostridium</i> (log UFC/g) ²	1,30c	1,88bc	2,38ab	3,32a	2,01bc	19,63
<i>Lactobacillus</i> (log UFC/g) ²	10,18a	7,68b	7,69b	6,96c	7,39b	18,17

¹ Valores nas linhas seguidos de letras desiguais diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,01$).

² Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias/g de silagem.

Em relação às silagens de outras forrageiras, como sorgo, alfafa e gramíneas em geral, o desenvolvimento de clostrídeos pode ser considerado bastante baixo. Isto pode ser atribuído ao fato de que a silagem de grãos de milho úmido apresenta a vantagem de possuir baixa capacidade-tampão (6,0-7,0 e.mg/100 g MS). Quanto maior for a capacidade-tampão, maior quantidade de ácido láctico terá que ser produzida para que o pH atinja níveis inibitórios à ação dos clostrídeos (Rotz & Muck, 1994). Também pode-se destacar o alto teor de matéria seca (60-70% MS), normalmente apresentado pela silagem de grãos de milho úmido, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos que atuam no processo fermentativo para a conservação da massa ensilada. No entanto, segundo Jaster (1994), para que o processo fermentativo ocorra com sucesso são necessárias condições de anaerobiose, substrato adequado (carboidratos solúveis), e uma população suficiente de *Lactobacillus*.

Os resultados referentes ao desenvolvimento de lactobacilos são semelhantes aos encontrados por Wardynski et al. (1993), que registraram valores entre 9,32 e 6,98 log UFC/g para as silagens de grãos de milho com 67,7 e 76,5% de MS, respectivamente.

A presença de leveduras em silagens foi identificada inicialmente em 1932, mas sua importância foi ignorada até 1964, quando alguns pesquisadores demonstraram que essas leveduras têm um papel importante na deterioração da silagem quando da exposição ao ar durante o descarregamento dos silos, ou por problemas de vedação inadequada (McDonald, 1981; Lindgren et al., 1985; Jaster, 1994).

Constatou-se (Tabela 2) que o desenvolvimento de leveduras cresceu ($P < 0,01$) após a abertura dos silos, em todos os tratamentos, estando de acordo com os resultados de Sanderson (1993), que observou aumento no desenvolvimento de leveduras nas silagens de milho e sorgo com o prolongamento da exposição ao ar. Observou-se também, que a presença do sabugo nas silagens, principalmente com 20% de sabugo, aumentou o desenvolvimento das leveduras com a exposição prolongada ao ar (2, 4 e 6 dias). Tal fato pode ser atribuído à maior

porosidade das silagens, nos tratamentos com maior percentagem de sabugo aumentando a oxigenação, e, em consequência, favorecendo o desenvolvimento de leveduras. As observações do presente estudo são semelhantes às de Mahanna (1994), que recomenda, na confecção de silagens de espiga de milho, fazer uma moagem adequada, para evitar o acúmulo de sabugo em determinadas áreas, favorecendo a presença de oxigênio e o desenvolvimento de leveduras.

De acordo com Mahanna (1994), as enterobactérias geralmente não produzem grande efeito sobre a qualidade das silagens e competem com as

TABELA 2. Desenvolvimento de leveduras nas silagens de grãos de milho úmidos com diferentes proporções de sabugo e períodos de amostragem¹.

Tratamentos ²	Dias após a abertura dos silos			
	0	2	4	6
	-----UFC/g MV-----			
GM	8,29dA	9,64cC	11,71bB	12,28aD
GM + 5% S	7,46dBC	10,91cB	11,64bB	11,86aE
GM + 10% S	7,57dB	10,85cB	11,27bC	12,80aC
GM + 15% S	7,16dD	10,90cB	12,54bA	13,26aB
GM + 20% S	7,30dCD	11,68cA	12,74bA	13,49aA

¹ Valores nas linhas seguidos de letras minúsculas e valores nas colunas seguidos de letras maiúsculas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,01$); CV = 4,12.

² GM = grãos de milho; S = sabugo.

TABELA 3. Desenvolvimento de enterobactérias nas silagens de grãos úmidos de milho com diferentes proporções de sabugo e períodos de amostragem¹.

Tratamentos ²	Dias após a abertura dos silos			
	0	2	4	6
	-----UFC/g MV-----			
GM	1,36cD	1,55cC	4,39aA	3,66bB
GM + 5% S	2,04cC	1,75cC	2,68bB	3,70aB
GM + 10% S	2,69bB	2,06cBC	3,56aB	2,98bC
GM + 15% S	2,85cB	2,47cB	3,57bC	5,11aA
GM + 20% S	3,46cA	3,68bcA	4,23bA	4,88aA

¹ Valores nas linhas seguidos de letras minúsculas e valores nas colunas seguidos de letras maiúsculas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,01$); CV = 7,94.

² GM = grãos de milho; S = sabugo.

bactérias acidoláticas pelos carboidratos solúveis no início do processo de fermentação da massa ensilada, produzindo principalmente ácido acético. Constatou-se um aumento ($P < 0,01$) no número de unidades formadoras de colônias/g de silagem para enterobactérias (Tabela 3), com o prolongamento no período de exposição ao ar. Do mesmo modo, a presença de sabugo nas silagens favoreceu o desenvolvimento desses microrganismos. Os resultados observados nesse experimento conferem com os registrados por Lindgren et al. (1985), que registraram aumento na população de enterobactérias nas camadas superficiais de silagem de gramíneas, e silagem de gramíneas misturada com leguminosas, após a abertura dos silos. Os autores observaram, também que, após oito dias de exposição ao ar, somente na superfície dos silos houve crescimento da população de enterobactérias (5,0-5,5 log UFC/g silagem) e não houve alteração nas profundidades de 40 a 60 cm (3,0 - 3,5 log UFC/g de silagem) e de 140-160 cm (2,2 - 2,4 log UFC/g de silagem).

CONCLUSÕES

1. O número de lactobacilos com valores entre 6,96 e 10,18 log UFC/g de silagem é satisfatório para obter uma boa fermentação das silagens.

2. A presença de sabugo favorece o desenvolvimento de clostrídeos, de leveduras e enterobactérias após a abertura dos silos.

REFERÊNCIAS

- JASTER, E. Fermentation principles of legume, grass forage examined. **FEEDSTUFFS**, n.12, p.14-16, Dec. 1994.
- JONSSON, A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.54, p.557-568, 1991.
- LINDGREN, S.; PETTERSSON, K.; KASPERSSON, A.; JONSSON, A.; LINGVALL, P. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.36, p.765-774, 1985.
- MAHANNA, B. Proper management assures high-quality silage, grains. **FEEDSTUFFS**, n.10/17, p.12-56, Jan. 1994.
- MATHINSON, G.W.; ENGSTROM, D.F.; KENNELLY, J.J.; PITT, R.E. Efficacy of anhydrous ammonia and sulfur dioxide as preservative for high moisture grain and their effect on the nutritive value of barley of growing-finishing cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.69, p.1007,1989.
- McDONALD, P. **The biochemistry of silage**. New York: J. Wiley & Sons, 1981. 207p.
- MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.11, p.2992-3002, 1988.
- MUCK, R.E.; PITT, R.E.; LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage. I. Microbial characteristics. **Grass and Forage Science**, v.46, p.283-290, 1991.
- ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. Changes in forage quality during harvest and storage. In: FORAGE quality, evaluation, and utilization. Madison: Wisconsin, 1994. p.828-868.
- SANDERSON, M.A. Aerobic stability and in vitro fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages. **Journal of Animal Science**, v.71, p.505-514, 1993.
- TENDERDY, R.P.; WEINBERG, Z.G.; SZAKACS, G.; LINDEN, J.C.; HENK, L.L.; JOHNSON, D.E. Ensiling alfalfa with additives of lactic acid bacteria and enzymes. **Journal of the Science of food and Agriculture**, v.55, p.215-228, 1991.
- TOSI, H.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; RAVAZZI, J.P. Presença de *Clostridium* em silagem de milho colhido em diferentes estádios de desenvolvimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.8, p.1133-1136, 1982.
- WARDYNSKI, F.A.; RUST, S.R.; YOKOYAMA, M.T. Effect of microbia inoculation of high-moisture corn on fermentation characteristics, aerobic stability, and cattle performance. **Journal of Animal Science**, v.71, p.2246-2252, 1993.