



## **EFEITO DO *LENTILACTOBACILLUS HILGARDII*, DO *L. BUCHNERI* E DO TEMPO DE ENSILAGEM SOBRE OS TEORES DE PROLAMINAS E DEGRADABILIDADE RUMINAL *IN VITRO* DE SILAGENS DE GRÃO DE MILHO REIDRATADOS**

**LEITE**, Sarah Loise Silva<sup>1</sup>; **FERREIRA**, Deborah Alves<sup>2</sup>; **GOMES**, Márcio Gianordoli  
Teixeira<sup>3</sup>

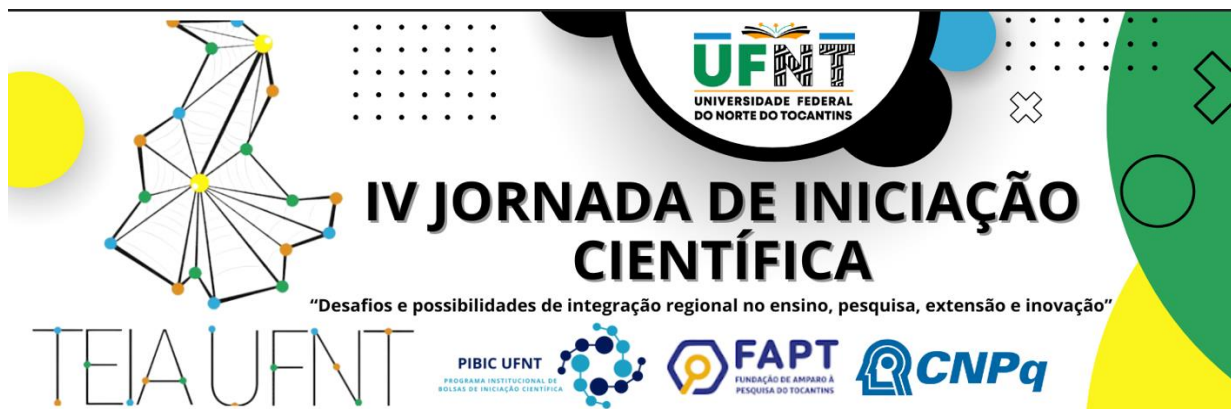
### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar os efeitos do uso dos inoculantes *Lentilactobacillus buchneri*, isolado e em associação com *L. hilgardii*, sobre os teores de prolaminas, produção de gases e degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) em silagens de grãos de milho reidratado submetidas a diferentes tempos de armazenamento. O estudo foi conduzido utilizando mini-silos de PVC, armazenados por 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias. Adotou-se delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 6, com quatro repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Os tratamentos consistiram em: controle (sem inoculante), *L. buchneri* isolado (LB) e a associação *L. hilgardii* + *L. buchneri* (LHLB). Os resultados evidenciaram redução progressiva nos teores de prolaminas ao longo do tempo, independentemente do tratamento, indicando intensificação da proteólise durante o processo fermentativo. A associação dos inoculantes LHLB apresentou maior eficiência na degradação da matriz proteica, refletida nos menores teores de prolaminas e nos maiores valores de DIVMO, especialmente após 60 dias de ensilagem. A produção acumulada de gases aumentou com o avanço do período de armazenamento, demonstrando que o prolongamento da ensilagem intensifica a fermentação e melhora a degradabilidade. O comportamento da DIVMO ao longo dos períodos avaliados indicou que, a partir de 45 dias, já ocorrem ganhos expressivos na degradabilidade, sendo os maiores valores registrados entre 60 e 90 dias, com destaque para o tratamento LHLB. Esse resultado reforça que a combinação dos inoculantes heterofermentativos acelera a degradação da matriz proteica e a liberação do substrato, promovendo uma fermentação mais eficiente e maior valor nutritivo da silagem. Portanto, recomenda-se que a abertura dos silos de milho reidratado ocorra, preferencialmente, a partir de 60 dias. Contudo, em casos de necessidade de uso antecipado, a abertura a partir de 45 dias é viável com o uso dos

1 Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. e-mail: sarah.leite@ufnt.edu.br

2 Orientadora do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. e-mail: deborah.ferreira@ufnt.edu.br

3 Professor da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. e-mail: marcio.gomes@ufnt.edu.br



inoculantes em associação (*L. hilgardii* ao *L. buchneri*), sem prejuízo à estabilidade aeróbia nem à degradabilidade da silagem.

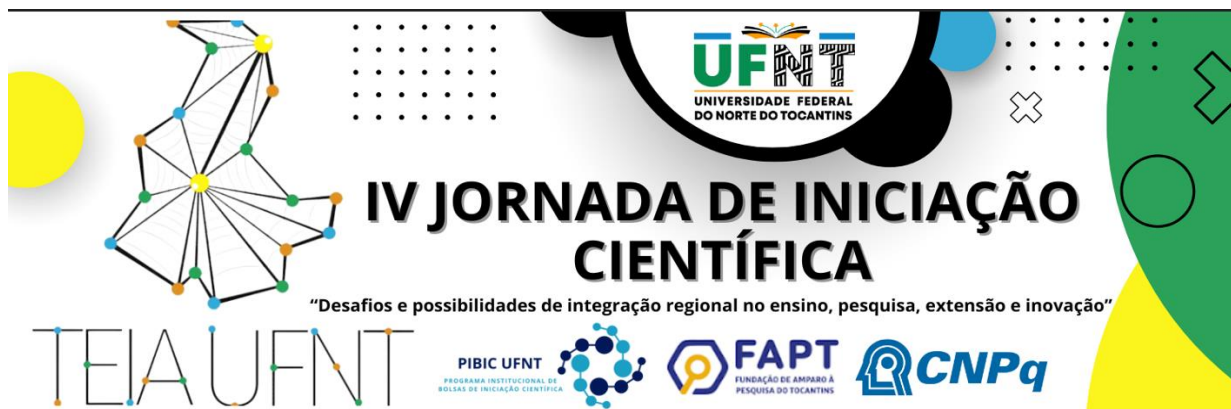
**Palavras-chave:** Amido. Inoculante. Protease. Reidratação. Zeína.

## I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

O milho é componente essencial na dieta de ruminantes por ser importante fonte de energia, com alto teor de amido (736,6 g/kg MS) (VALADARES FILHO et al., 2025). Durante a fermentação, enzimas microbianas e do próprio grão degradam a matriz proteica e reduzem as prolaminas (JUNGLES et al., 2017), tornando o amido mais acessível e aumentando sua degradabilidade ruminal, especialmente após 60 dias (FERRARETTO et al., 2018; SILVA et al., 2019; FERNANDES et al., 2021). Apesar dos benefícios, a silagem de grãos reidratados tende a deteriorar-se rapidamente após a abertura, geralmente entre 71 e 100 horas (SILVA et al., 2018; SILVA et al., 2019). Para minimizar esse problema, o uso de inoculantes como *Lentilactobacillus buchneri* e *L. hilgardii* tem se mostrado eficiente. A associação dessas espécies aumenta a estabilidade aeróbica ao elevar a produção de ácido acético, composto com ação antifúngica, mantendo a silagem estável por mais de 250 horas após fermentação de 30 a 92 dias (SILVA et al., 2021). Assim, a ensilagem de grãos reidratados associada ao uso de inoculantes microbianos configura-se como estratégia eficaz para reduzir perdas e elevar o valor nutritivo do milho, atendendo às demandas dos sistemas intensivos de produção animal.

## II. OBJETIVOS

Objetivou-se verificar se o *L. buchneri* isolado ou associado ao *L. hilgardii* aumenta a proteólise nas silagens de grãos de milho reidratado, interferindo positivamente na degradabilidade ruminal *in vitro* da MS, mesmo durante períodos curtos de fermentação.

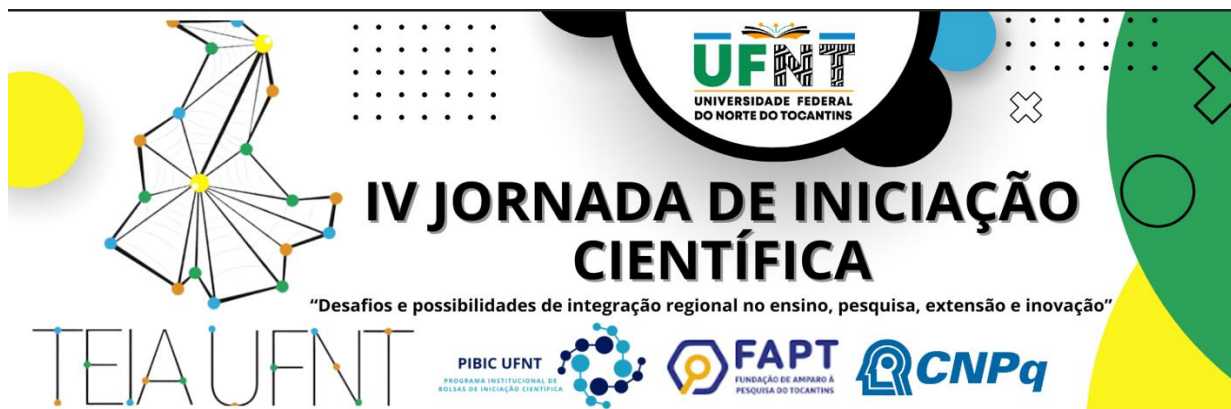


### III. METODOLOGIA

O grão de milho foi obtido no comércio local. Após a moagem, foi dividido em 12 pilhas (4 repetições por tratamento), reidratado para atingir 65 g/kg de MS e inoculado com um dos três aditivos microbianos (tratamentos): 1) Controle (sem aditivo); 2) *Lentilactobacillus hilgardii* + *L. buchneri*; 3) *L. buchneri*. O material foi ensilado em silos experimentais e mantido em temperatura ambiente até as datas de abertura (15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias). Uma amostra foi retirada para determinação da matéria pré-seca, em estufa de ventilação forçada, a 55°C, até peso constante (AOAC, 1980). Em seguida, foi moída a 1 mm para análises de matéria seca a 105°C, sendo utilizada para a análise de prolaminas (NELLIS et al., 2013). O ensaio de produção de gases foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animal da Universidade Federal do Norte do Tocantins sob o número 19/2024, foi realizado de acordo com a metodologia descrita por MAURÍCIO et al. (1999). Os dados de produção acumulada de gases foram ajustados ao modelo de Gompertz. Foi determinada a degradabilidade da matéria orgânica às 24h. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial 3 x 6, com quatro repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

### IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de prolaminas diminuíram ao longo do armazenamento da silagem de milho reidratado em todos os tratamentos ( $p < 0,0001$ ) (Tabela 1). Essa redução ao longo do tempo pode ser atribuída à proteólise, que degrada proteínas insolúveis como as prolaminas (HOFFMAN et al., 2011). Observou-se maior concentração inicial, com redução acentuada até os 45 dias, estabilização entre 45 e 75 dias e nova redução aos 90 dias. Houve efeito do uso dos inoculantes ( $p < 0,0001$ ), mas não houve interação entre inoculantes e tempo ( $p = 0,2808$ ). Esses resultados indicam que a aplicação de inoculantes, especialmente a combinação LBLH, favorece a degradação



das prolaminas durante o armazenamento, o que pode contribuir para a maior degradabilidade da silagem.

**Tabela 1.** Teores de prolaminas em silagens de grãos de milho reidratado submetidas a diferentes tempos de armazenamento e inoculantes bacterianos.

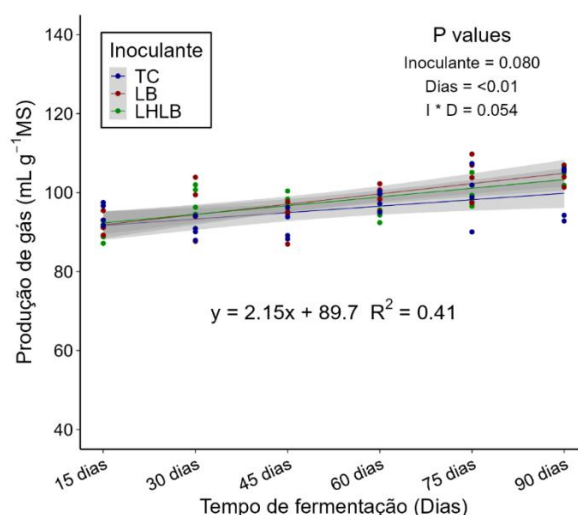
		Tempo (dias)					
Tratamentos		15	30	45	60	75	90
Prolaminas g kg <sup>-1</sup> MS	TC	68,83	68,08	52,12	52,12	54,3	27,9
	LB	63,08	58,77	49,98	44,24	51,62	20,16
	LBLH	60,22	55,36	43,49	43,45	51,5	21,15

TC = tratamento controle; LB = *L. buchneri*; LHLB = *L. hilgardii* e *L. buchneri*; I = efeito do inoculante; T = efeito do tempo de armazenamento; I x T = interação entre o inoculante e tempo de armazenamento. EPM= 0,8029, P-valor: I= <0,0001; T= <0,0001 e IxT= 0,2808

A produção acumulada de gases após 24 h de incubação da silagem de milho reidratado aumentou com o tempo de ensilagem ( $p < 0,01$ ), indicando que a fermentação prolongada favoreceu a fermentação (Figura 1). Esse aumento está relacionado à modificação da estrutura do grão, especialmente à proteólise das prolaminas, que expõe os grânulos de amido e torna o substrato mais acessível à fermentação microbiana. Com o avanço do tempo de estocagem, intensifica-se a solubilização de proteínas e a liberação de aminoácidos e nitrogênio amoniacal, melhorando a digestibilidade e resultando em maior produção de gases durante a incubação *in vitro*.



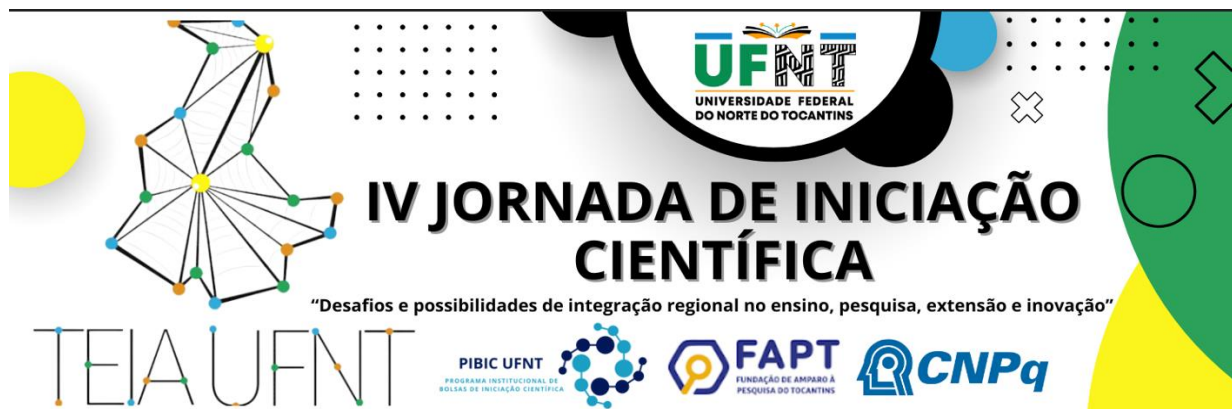
**Figura 1** – Produção acumulada de gás em 24h de incubação de silagem de milho reidratado submetida a inoculantes microbianos ao longo do tempo de ensilagem.



TC: tratamento controle (sem inoculante); LB: *Lentilactobacillus buchneri*; LHLB: combinação de *L. hilgardii* e *L. buchneri*.

Não houve efeito dos inoculantes sobre a produção de gases ( $p = 0,08$ ), nem interação entre inoculante e tempo ( $p = 0,054$ ). Embora o teor de prolaminas tenha se mostrado diferente, não foi possível demonstrar seus efeitos na produção cumulativa de gases.

Não houve efeitos dos inoculantes de DIVMO (degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica), porém houve efeito linear crescente para tempo de fermentação ( $p = <0,01$ ) e interação de inoculantes e tempo de fermentação ( $p = <0,01$ ) (Tabela 2). Valores mais elevados de produção de gases indicam maior DIVMO, resultado da adaptação microbiana ao ambiente anaeróbico e da intensificação da degradação de proteínas (FERNANDES et al., 2021). O uso dos inoculantes LHLB permite antecipar a abertura do silo para 45 dias sem comprometer a estabilidade aeróbia (MILHOMEM, 2025) nem a degradabilidade da silagem. A associação com LH acelera a fermentação e melhora o aproveitamento ruminal, confirmando a eficiência de bactérias



heterofermentativas em promover maior digestibilidade pela produção de ácidos orgânicos e aumento da proteólise (SILVA et al., 2018).

**Tabela 2.** Desdobramento do efeito da interação entre inoculante e tempo de ensilagem nas variáveis da técnica de produção de gás *in vitro* e dos parâmetros do modelo Gompertz de silagem de milho reidratado.

Inoculante	Tempo de ensilagem					
	15	30	45	60	75	90
Degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (g/kg)						
TC	885,38Ab	871,56Ab	883,25Bb	918,60Aa	931,14Aa	941,60Aa
LB	865,03Be	888,07Ade	900,35ABcd	916,12Abc	939,07Aab	947,74Aa
LHLB	854,62Bc	883,36Ab	905,74Ab	929,79Aa	934,95Aa	951,03Aa
CV	1,24%					

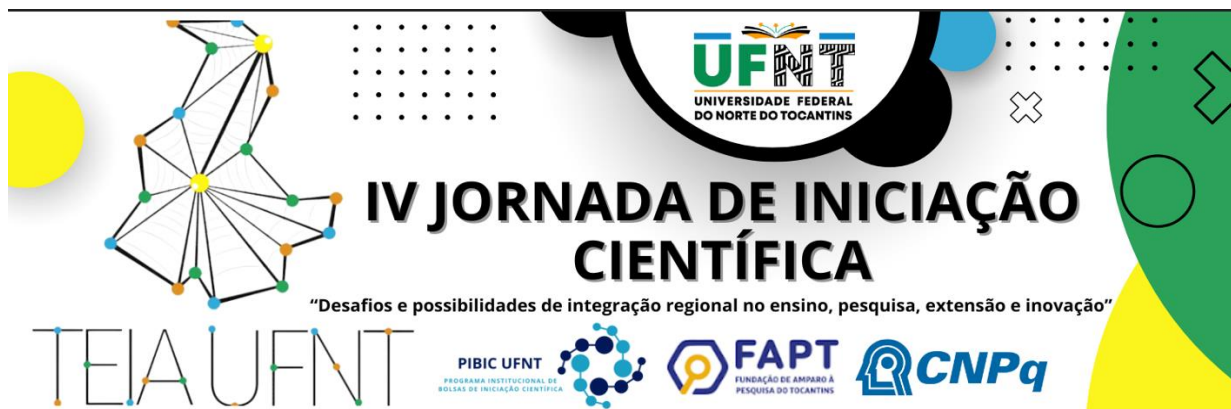
As letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas indicam diferenças entre os inoculantes e os dias de fermentação, de acordo com o teste de Tukey 5%. P-valor: I= <0,03; T=<0,01 (Linear) e IxT<0,01

## V. CONCLUSÃO

Os inoculantes associados foram eficazes em promover o aumento da proteólise e da degradabilidade *in vitro* já aos 45 dias de fermentação. Recomenda-se que os silos de milho reidratado sejam abertos preferencialmente após 60 dias de fermentação. No entanto, quando há necessidade de uso antecipado, a abertura a partir de 45 dias é viável com a associação dos inoculantes *Lentilactobacillus buchneri* e *L. hilgardii*, sem comprometer a estabilidade aeróbia nem a degradabilidade da silagem.

## VI. REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analyses**. 13th ed. Washington, 1015 p. 1980.



- FERNANDES, J. *et al.* Influence of hybrid, moisture, and length of storage on the fermentation profile and starch digestibility of corn grain silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 271, p.114707, 2021.
- FERRARETTO, L. F. *et al.* Effect os ensiling time on fermentation profile and ruminal in vitro starch digestibility in rehydrated corn with or without varied concentrations of wet brewers grains. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.4643-4649, 2018
- HOFFMAN, P. C. *et al.* Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in highmoisture corn. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.5, p.2465- 2474, 2011.
- JUNGES, D. *et al.* Influence of various proteolytic sources during fermentation of reconstituted corn grain silages. **Journal of dairy science**, v.100, n.11, p.9048-9051, 2017.
- MAURÍCIO, R. M. *et al.* A semiautomated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999.
- MILHOMEM, P. H. S. **Inoculação bacteriana e tempo de ensilagem sobre o valor nutritivo e a estabilidade acróbia de silagens de grãos de milho reidratados.** 2025. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências Agrárias - CCA. TO, 2025.
- NELLIS, S. E.; HOFFMAN, P. C.; SHAVER, R. D. A modified method to quantify prolamin proteins in dry and high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 7, p. 4647-4652, 2013.
- SILVA, E. B. *et al.* Effects of *Lactobacillus hilgardii* 4785 and *Lactobacillus buchneri* 40788 on the bacterial community, fermentation and aerobic stability of high-moisture corn silage. **Journal of Applied Microbiology**, v.130, n.5, p.1481-1493, 2021.
- SILVA, N. C. **et al.** Fermentation and aerobic stability of rehydrated corn grain silage treated with different doses of *Lactobacillus buchneri* or a combination of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici*. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 4158 – 4167, 2018.
- SILVA, N. C. *et al.* Influence of storage length and inoculation with *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of high-moisture corn and rehydrated corn grain silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 251, p. 124-133, 2019.
- VALADARES FILHO, S. C. *et al.* CQBAL 4.0. Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Ruminantes. vitro degradation of ruminant feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v.163, n.1, 2025.

## VII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins (FAPT), por meio da concessão de bolsa de pesquisa.