

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado de Pós-Graduação em Zootecnia

**QUALIDADE DAS SILAGENS DE SORGO COM ALTA
UMIDADE REENSILADAS APÓS DIFERENTES TEMPOS
DE EXPOSIÇÃO AO AR**

VINÍCIUS SILVEIRA RAPOSO

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG
2015

Vinícius Silveira Raposo

**QUALIDADE DAS SILAGENS DE SORGO COM ALTA
UMIDADE REENSILADAS APÓS DIFERENTES TEMPOS DE
EXPOSIÇÃO AO AR**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

**Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária - UFMG 2015**

R219q Raposo, Vinicius Silveira, 1989-
Qualidade das silagens de sorgo com alta umidade reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar / Vinicius Silveira Raposo. – 2015.
52 p. : il.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Sorgo – Silagem – Teses. 2. Sorgo – Qualidade – Teses. 3. Valor nutricional – Teses.
4. Fermentação – Teses. 5. Digestibilidade – Teses. I. Jayme, Diogo Gonzaga.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

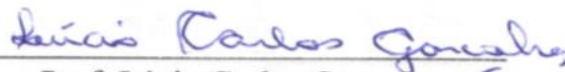
CDD – 633.2

Tese defendida e aprovada em 14 de julho de 2015.

Comissão examinadora:



Prof. Diogo Gonzaga Jayme
Orientador



Prof. Lúcio Carlos Gonçalves



José Avelino dos Santos Rodrigues

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Luiz Roberto Tedesco Raposo e Iara de Lourdes Queiroz Silveira,
pelo amor incondicional, apoio e incentivo;

AGRADECIMENTOS

Aos professores Diogo Gonzaga Jayme e Lúcio Carlos Gonçalves, pela oportunidade, amizade, confiança, exemplo e ensinamentos;

Ao Pesquisador José Avelino pelos ensinamentos e por toda contribuição na execução deste trabalho;

À professora Kelly pela confiança, contribuição e pelos ensinamentos;

Aos funcionários do LabNutri, Toninho e Fabiana, pela ajuda na execução das análises;

Aos meus pais, por me proporcionarem esta conquista e por todo apoio e incentivo;

Às minhas irmãs Larissa e Melissa, pelo exemplo e apoio incondicionais;

À Raquel por toda ajuda, companheirismo e amor em todos os momentos;

Aos amigos Eduardo, Pedro e João Pedro por toda ajuda;

Ao grupo de Forragicultura e Alimentos pela contribuição na realização deste projeto;

Aos amigos da Escola de Veterinária, pelos momentos ao longo desta etapa;

À Embrapa Milho e Sorgo, pela execução da parte de campo deste projeto; A todos que de alguma forma participaram na execução deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
<hr/>	
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Estacionalidade na produção de forragem.....	12
2.2 Cultura de sorgo.....	12
2.3 Conservação de forragens na forma de silagem.....	13
2.4 Microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia de silagens.....	16
2.5 Estabilidade aeróbia de silagens.....	17
2.6 Uso de silagem na alimentação de ruminantes.....	17
2.7 Avaliação da qualidade de silagens.....	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
4. ARTIGO.....	26
5. ANEXO I (Coeficientes de correlação <i>Pearson</i>).....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Temperaturas diárias (máxima, mínima e média) aferidas durante o processo de reensilagem 30

Tabela 2 - Composição química da silagem utilizada no estudo 34

Tabela 3 - Contagem de fungos, leveduras (Lev) e bactérias ácido lácticas aeróbias (BAL) em log UFC g⁻¹, no momento da abertura das silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar 35

Tabela 4 - Contagem de fungos, leveduras (Lev) e bactérias ácido lácticas aeróbias (BAL) em log UFC g⁻¹, no momento de avaliação da perda da estabilidade aeróbia e a estabilidade aeróbia das silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar..... 36

Tabela 5 - Parâmetros da qualidade da fermentação, avaliados no suco retirado de silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar..... 37

Tabela 6 - Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar 38

LISTA DE ABREVIACÕES

BAL	Bactérias ácido lácticas
CEL	Celulose
CNF	Carboidratos não fibrosos
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DRBC	Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar
EA	Estabilidade aeróbia
EE	Extrato etéreo
FDAcP	Fibra insolúvel em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
FDNcp	Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína
HEM	Hemiceluloses
LIG	Lignina
MS	Matéria seca
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
PB	Proteína bruta
PCA	Ágar contagem padrão
T0	Tratamento testemunha (sem reensilagem)
T12	Silagem reensilada após 12 horas de exposição ao ar
T24	Silagem reensilada após 24 horas de exposição ao ar
T48	Silagem reensilada após 48 horas de exposição ao ar
TGY	Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar
UFC	Unidades formadoras de colônia

RESUMO

Falhas na produção de forragem são comuns na pecuária. Para contornar a falta de alimentos volumosos, produtores têm aumentado o uso da prática da reensilagem. Porém o material que passa por este processo fica exposto ao ar, sujeito à deterioração aeróbica e diminuição do valor nutricional. Objetivou-se mensurar o efeito da reensilagem na qualidade e composição bromatológica das silagens de sorgo com alta umidade reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar. As silagens foram expostas ao ar e reensiladas nos tempos de 12, 24 e 48 horas, mantendo-se um tratamento testemunha sem reensilagem. As variáveis foram testadas pela análise de variância. Para as variáveis diferentes ($p < 0,05$) na análise de variância, procedeu-se o desdobramento dos contrastes ortogonais, a fim de comparar o tratamento testemunha com os demais. Além disto para estas variáveis testou-se os tempos de reensilagem por meio de contrastes ortogonais quanto ao efeito linear ou quadrático. Não houve efeito da reensilagem na contagem de microrganismos aeróbios, na densidade relativa de fungos, na estabilidade aeróbia, na recuperação de matéria seca, na composição química e consequentemente na digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Quanto aos parâmetros de fermentação, não houve influência no pH, N-NH₃ e ácidos láctico, butírico e propiônico, entretanto houve influência da reensilagem na concentração de ácido acético ($p < 0,05$), com efeito linear em função dos tempos de exposição ao ar ($p < 0,01$). A reensilagem de sorgo feita em até 48 horas não modifica a composição química nem a estabilidade aeróbia da massa. Contudo, com o aumento do tempo de exposição ao ar, há também aumento linear da concentração de ácido acético na massa ensilada.

Palavras-chave composição, deterioração, nutrição, reensilagem

1. INTRODUÇÃO

Devido à estacionalidade forrageira, a utilização de suplementos volumosos no inverno é importante para o sucesso dos sistemas de produção pecuária. As culturas mais utilizadas para suplementação de volumoso conservado são as de milho e de sorgo.

Dentre os processos de conservação, o mais utilizado é a ensilagem. Este método consiste em acondicionar a forrageira *in natura* picada em silos. No silo o material é compactado e hermeticamente vedado. Este ambiente favorece a proliferação de microrganismos anaeróbicos capazes de fermentar carboidratos solúveis, produzindo ácidos orgânicos. Dentre os ácidos, o ácido lático é o principal ácido orgânico responsável pela conservação do material ensilado.

No processo de ensilagem, perdas por efluentes e gases são comuns e podem ser significativas, sobretudo em materiais com teores de matéria seca abaixo de 25%. Além disso quando há exposição do material ensilado ao ar ocorrem também perdas por deterioração aeróbia. Devido a proliferação de microrganismos aeróbios capazes de degradar ácidos orgânicos e nutrientes da planta, a composição química da silagem pode ser modificada diminuindo seu valor nutritivo. Alguns microrganismos deterioradores ainda são importantes por produzir compostos secundários que oferecem risco à saúde animal e humana.

Erros no planejamento forrageiro ou falhas na produção de volumosos são comuns na pecuária. Para contornar tais problemas, a prática da reensilagem têm se tornado frequente, esta prática consiste na compra da silagem em uma propriedade para ser reensilada na propriedade de destino. O material que passa por este processo fica exposto ao ar, sujeito à deterioração aeróbia e diminuição do valor nutricional.

Ademais, não há estudos científicos que avaliaram as perdas ocorridas em silagens de sorgo reensiladas. Portanto, objetivou-se com este estudo mensurar o efeito da reensilagem na qualidade e composição das silagens de sorgo com alta umidade reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estacionalidade de produção forrageira

A estacionalidade de produção forrageira, sobretudo na região central do Brasil, influencia o manejo nutricional dos sistemas de produção pecuária. Nas regiões tropicais, as estações do ano são bem definidas. O período de verão é caracterizado por dias longos, temperaturas elevadas (acima de 20°C) e normalmente ocorrência de chuvas, cenário ideal para o crescimento da maioria das forrageiras. Contudo, o inverno é caracterizado por dias curtos, baixas temperaturas (abaixo de 20°C), sobretudo a noite, e normalmente pela ausência de pluviosidade, o que torna o clima desfavorável ao crescimento da maioria das forrageiras.

Para manter a produção constante ao longo do ano, os pecuaristas são obrigados a lançar mão de alternativas de suplementação com alimentos volumosos no período de escassez (Faria Jr. *et al.*, 2012).

Alimentos volumosos são assim classificados por possuírem em sua composição teor de fibra bruta superior a 18% da matéria seca (Gonçalves *et al.*, 2012). Mesmo que a fibra bruta não seja o melhor método para avaliar alimentos para ruminantes, esta classificação ainda é usada.

Dentre os alimentos volumosos mais utilizados para produção de silagem, o milho se destaca como primeiro colocado e o sorgo aparece como a segunda cultura mais utilizada no Brasil para este fim (Bernardes, 2014).

2.2 Cultura do sorgo

O sorgo (*Shorgum bicolor* (L.) Moench) é um dos cereais mais cultivados no mundo, de acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO).

A combinação de potencial genético e o uso de boas práticas de cultivo tem propiciado altos rendimentos de forragem e grãos em regiões de condições ambientais desfavoráveis para a maioria dos cereais.

O ciclo da planta de sorgo é variável em função do híbrido, podendo ser desde 60 dias em híbridos precoces até 120 dias ou mais para híbridos tardios (Rodrigues *et al.*, 2012). Da mesma forma, a recomendação de densidade de plantio também é variável de acordo com o cultivar, ou até mesmo com as condições de cultivo, como por exemplo em integração com outras culturas. Para produção de silagem, recomenda-se para a maioria dos híbridos uma população de plantas de 120 mil plantas por ha (Rodrigues, *et al.*, 2008).

A planta de sorgo atinge seu potencial máximo de produção na faixa de temperatura de 21°C a 38°C, sendo que em temperaturas menores que 16°C seu crescimento é interrompido,

além disto, exige em média 500 mm anuais de chuva para completar seu ciclo produtivo (Magalhães *et al.*, 2003) (Sans *et al.*, 2012).

O sorgo possui características interessantes em relação ao milho, como menor sensibilidade à seca e menor quantidade de luz para concluir o ciclo produtivo (Weinberg *et al.*, 2011). Além de ser de simples cultivo e produzir altos rendimentos de matéria seca, o sorgo ainda apresenta boa oportunidade de intensificar o uso do solo, pois há a possibilidade de cultivo e utilização da rebrota (Zago, 2001).

A gama de acessos de sorgo é vasta, entretanto esta planta normalmente não tem como característica a união de valor nutricional e produtividade. Os sorgos classificados como forrageiros são os que apresentam maior rendimento de matéria seca, porém com valor nutricional mais baixo. Ao passo que híbridos graníferos, ou de duplo propósito, apresentam produtividades menores, porém com maior valor nutricional (Berenji e Dahlberg, 2004).

Em 2008 a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) lançou o híbrido BRS 655 que reúne produtividade e valor nutricional e é recomendado para produção de silagem de alta qualidade. Este híbrido apresenta alta produção de matéria verde, aproximadamente 50 t ha⁻¹ e apresenta boa adaptação aos diversos sistemas de produção, possui porte alto (2,5m), resistência ao acamamento, alta participação de grãos na massa (30 a 40%), boa digestibilidade (55 a 60%), além de alta sanidade foliar (Rodrigues *et al.*, 2008).

Contudo, a característica mais importante deste híbrido é a alta ensilabilidade, ou seja, presença de quantidade suficiente de carboidrato solúvel para promover fermentação adequada da massa ensilada, superior a 6-8%, em consonância com a baixa capacidade tampão e colmos secos com excelente padrão de fermentação. Características que segundo McDonald *et al.*, (1991) são essenciais para que a conservação do alimento ocorra de forma rápida e eficiente.

2.3 Conservação de forrageiras na forma de silagem

A conservação de forragens é feita a vários séculos por meio de várias técnicas, nas quais objetiva-se preservar a forragem em seu melhor momento para utilizá-la nos períodos de escassez (McDonald *et al.*, 1991).

Dentre elas, a ensilagem é mais utilizada no mundo. Esta técnica consiste no armazenamento de forragens úmidas, picadas em um local denominado silo e tem como produto final a silagem, que foi definida por Woolford (1984) como produto formado, quando culturas com alta concentração de umidade, sujeitas à ação de microrganismos deterioradores, são armazenadas de forma anaeróbica. Wilkinson *et al.*, (2003), apontaram três fatores cruciais que influenciam fortemente na fermentação da forragem no silo, são eles: a cultura utilizada, a umidade da cultura no momento da ensilagem e a eliminação do O₂ da massa ensilada.

O sinergismo do abaixamento do pH com o ambiente anaeróbico impede a proliferação de microrganismos deterioradores do alimento (Woolford, 1990).

A confecção de silagem é resultante de várias etapas e o sucesso na ensilagem está condicionado à rapidez com que cada etapa é realizada. Para que cada uma seja executada corretamente, a gestão dos processos envolvidos deve ser feita de forma minuciosa.

A primeira etapa da ensilagem propriamente dita é a colheita do material no campo, na qual dois pontos principais devem ser levados em consideração, o estágio de maturação da planta e a redução do tamanho de partícula.

O estágio de maturação influencia fortemente no teor de matéria seca da forragem, em que quanto mais jovem for a planta, menor será seu teor de matéria seca. Este parâmetro pode afetar vários aspectos na conservação do volumoso. Além da umidade, o tamanho de partícula também irá influenciar diretamente na capacidade de compactação do material ensilado (Ruppel *et al.*, 1995).

O teor de matéria seca da forragem no momento da ensilagem deve estar na faixa de 28 a 40%, quando este é inferior a 28% aumenta-se as perdas por meio de efluentes, além de propiciar um ambiente adequado para a proliferação de microrganismos indesejáveis. A perda por efluentes em silagens, apesar de quantitativamente não ser elevada, tem grande reflexo na qualidade da silagem, sobretudo pela natureza do material que é perdido, em geral açúcares, nitrogênio, minerais e vitaminas (Rotz e Muck, 1994).

Por outro lado, quando o material é colhido com teor de matéria seca superior a 40%, pode ocorrer compactação inadequada do material, ocasionando entrada de ar na massa, devido à baixa massa específica. Esta situação favorece a proliferação de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos, causadores de grandes prejuízos à qualidade da silagem (Pitt *et al.*, 1991).

A segunda etapa da ensilagem consiste no abastecimento do silo e na compactação da massa. Estas estão intimamente ligadas às condições de aerobiose do alimento, cujo objetivo nesta etapa é eliminar o ar remanescente no interior da massa, para que se crie um ambiente anaeróbico, fundamental para o início do processo de fermentação (Pahlow *et al.*, 2003).

Segundo Muck e Holmes (2000), os fatores que afetam a densidade da massa em silos horizontais são teor de matéria seca, tamanho de partícula, altura da camada distribuída durante o enchimento, peso do veículo compactador e a pressão exercida pelo mesmo, tempo de compactação e altura do silo.

A densidade da massa vegetal no silo aliada ao teor de matéria seca indica a porosidade do material, que condiciona a taxa de movimentação do ar e conseqüentemente o potencial de deterioração do silo (Holmes, 2009).

A porosidade pode ser definida como o número de poros entre as partículas sólidas de um material. Em silagens a porosidade é muito influenciada pela densidade da matéria verde da planta, de modo que Holmes (2009) recomendou que a densidade de matéria verde de uma silagem deve ser próxima de 705 kg/m³ e a porosidade deve ser de aproximadamente 0,40. Para tal o material deve ser ensilado com teor de matéria seca entre 30 e 40%.

Segundo Ruppel *et al.*, (1995), a massa do veículo e a taxa de compactação, dentre as variáveis avaliadas, foram as que mais influenciaram a densidade da silagem. De acordo com Muck e Holmes (2000), a descarga de material fresco no silo não deve ultrapassar uma camada de 30 cm de altura e o tempo de compactação da massa ensilada deve ser de 1 a 4 minutos por tonelada de forragem ou 1 a 1,2 vezes o turno de colheita em horas.

A terceira etapa do processo de ensilagem consiste na vedação do silo. Objetiva-se nesta etapa proteger o material ensilado da chuva e da entrada de O₂ na massa. Quando chove durante a ensilagem, a massa ensilada está sujeita a todos os prejuízos decorrentes em um material muito úmido, com aumentos significativos na perda de matéria seca. Já quando há entrada de O₂ ocorrem perdas significativas, sobretudo no topo e nas laterais do silo, resultantes da deterioração aeróbia da silagem (Bolsen *et al.*, 1993).

Segundo Bernardes *et al.* (2012), o material mais utilizado no Brasil para vedação do silo é o polietileno de dupla face com uma face branca externa e outra preta interna, entretanto estes autores descreveram que a permeabilidade do plástico ao oxigênio é o fator que mais influencia na deterioração aeróbia de silagens. Neste contexto, outros materiais como poliamida e etileno vinil álcool têm sido estudados na tentativa de diminuir a entrada do oxigênio na massa ensilada (Dolci *et al.*, 2011).

Finalmente a quarta e última etapa, o desabastecimento do silo, ou fornecimento da silagem aos animais, que não faz parte da ensilagem propriamente dita, entretanto é uma etapa que deve ser controlada, pois é uma das principais causas de perda da silagem em fazendas comerciais.

Após abertura, o painel do silo fica exposto ao oxigênio e uma das principais condições para a boa conservação da silagem, que é a anaerobiose, é perdida. Para diminuir as perdas por oxidação na silagem após abertura do silo, Weinberg e Ashbell (1994) recomendaram a retirada de uma fatia mínima de 20 a 30 cm/dia, em países tropicais. Isto porque, segundo os mesmos autores o ar pode penetrar de 1-2 metros horizontalmente no silo, a partir do painel. Para exemplificar, pode-se raciocinar em um silo cujo seria retirada uma fatia do painel de 20-30 cm/dia e neste mesmo silo houve uma penetração horizontal de ar de 1 metro, a partir do painel. Neste caso então o material ficaria em contato com o O₂ por um período de 3 dias.

Em casos de silagens bem conservadas, este prazo pode não ser suficiente para determinar a perda de estabilidade da massa, entretanto para que isto ocorra é necessário que o silo seja corretamente dimensionado (Holmes, 2009).

Quando o silo é mal dimensionado ou o planejamento forrageiro é feito de forma equivocada, diversos produtores precisam lançar mão da compra de silagem pronta em uma unidade produtora e posterior reensilagem em outra de destino.

O inconveniente desta prática é que ao desensilar e expor o material ao ar por tempos variados, a deterioração aeróbica começa a ocorrer. A presença de O₂ na massa proporciona ambiente favorável à proliferação de microrganismos oportunistas presentes na silagem, como

fungos filamentosos, leveduras e bactérias aeróbias. Estes se desenvolvem a partir da fermentação de nutrientes da forragem, resultando em mudanças na composição química e perdas no valor nutritivo da silagem (Lindgren *et al.*, 1985).

Em unidades produtoras que utilizam silagem como suplemento volumoso no período seco, na maioria das vezes, só se dá importância à perda da silagem quando há presença visível de fungos, deste modo a perda por oxidação da massa não é contabilizada, resultando em subestimação das perdas totais.

Segundo Lindgren *et al.* (2002), as avaliações de deterioração aeróbia não devem ser limitadas apenas as perdas, mas também ao crescimento de microrganismos capazes de influenciar na sanidade da silagem.

2.4 Microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia de silagens

A avaliação de silagens por meio da contagem e caracterização microbiológica tem sido feita com maior frequência nos últimos anos, entretanto no Brasil os dados ainda são escassos (Jobim *et al.*, 2007).

A caracterização microbiológica é importante, sobretudo nos casos em que há indícios de deterioração aeróbia. Segundo Muck (2010), os diferentes microrganismos desempenham funções importantes no processo da ensilagem, e a preservação do material depende da dinâmica com que um grupo de microrganismos se torna predominante em relação ao outro.

As leveduras e os fungos são os microrganismos responsáveis pelo início da deterioração aeróbica em silagens (Woolford, 1990) (Pahlow *et al.*, 2003). As leveduras envolvidas no processo podem ser divididas em dois grupos, as utilizadoras de ácidos orgânicos e utilizadoras de açúcares solúveis (Jonsson e Pahlow, 1984). Estes microrganismos são capazes de se desenvolver em baixas concentrações de O₂ e em ambientes com pH abaixo de 4, situação condizente com o ambiente da silagem (Pahlow *et al.*, 2003). Segundo os mesmos autores, o contato com o oxigênio por longos períodos promove a multiplicação de leveduras e aumenta a susceptibilidade da silagem à deterioração aeróbia após abertura do silo.

O crescimento de fungos filamentosos pode ser considerado fator adicional no processo de deterioração, uma vez que este ocorre em sucessão ao crescimento das leveduras. Entretanto a presença dos fungos filamentosos nos alimentos resulta em perda de nutrientes da forragem e eventual contaminação com produtos secundários do metabolismo dos fungos, as micotoxinas (Lindgren *et al.*, 2002).

Animais que consomem grandes quantidades de silagem, sobretudo deterioradas, podem ingerir quantidades relativamente altas de micotoxinas. Estas são transferidas aos produtos de origem animal e conseqüentemente consumidas pelos humanos, podendo resultar em graves problemas de saúde pública (Whitlow e Hagler Jr., 1997) (Borreani *et al.*, 2008).

A contagem microbiológica da silagem pode apresentar ampla variação de resultados. De acordo com Pahlow *et al.*, (2003), a contagem de bactérias ácido lácticas pode variar de 10 a 10^5 ufc $g^{-1}MS$, a contagem de fungos de 10^3 a 10^4 ufc $g^{-1}MS$, e de leveduras de 10^2 a 10^3 ufc $g^{-1}MS$, em forrageiras antes do momento da ensilagem. Pitt *et al.* (1991), relataram que contagens de leveduras e fungos abaixo de 10^8 e 10^6 , respectivamente, não reduzem a qualidade de silagens. A variação na microbiota de acordo com Pahlow *et al.* (1989), é devido à forte influência das condições geográficas sobre a flora nos locais de condução dos ensaios.

Vale ressaltar que na reensilagem as perdas que ocorrem com a deterioração são dependentes do tempo que a silagem fica exposta.

O tempo que uma silagem pode ser mantida exposta ao ar é determinado pela sua estabilidade aeróbia, e esta é dependente de vários fatores, como espécie da planta, umidade da massa, concentração de O_2 e CO_2 , população de microrganismos aeróbios e temperatura ambiente (Pitt, 1990).

2.5 Estabilidade aeróbia de silagens

Após a abertura dos silos para fornecimento aos animais, a massa ensilada entra em contato com o ar, promovendo ambiente propício para o crescimento de microrganismos aeróbios que toleram valores de pH abaixo de 4,0, capazes de oxidar e fermentar produtos presentes nas silagens (Danner *et al.*, 2003).

A estabilidade aeróbia pode ser definida como a duração entre o início da exposição ao ar até o início da deterioração, momento em que se identifica aumento da produção de CO_2 , utilização de O_2 , redução da concentração de substratos, aumento da temperatura e pH, resultantes do aumento no número de microrganismos espoliadores da silagem (Bernardes e O'Kiely, 2013). O aumento da temperatura da massa ocorre devido à fermentação da glicose pelos microrganismos, em presença de O_2 , resultando em CO_2 , água e calor.

Vários métodos podem ser utilizados na avaliação da estabilidade aeróbia. A mensuração do tempo que a massa leva para atingir temperatura máxima ou a própria temperatura máxima que a massa ensilada alcança, são parâmetros que podem ser avaliados. Entretanto a opção mais comum e utilizada é por meio da mensuração do tempo que a massa gasta para ultrapassar a temperatura ambiente em $2^\circ C$ (McEniry *et al.*, 2007).

2.6 Uso de silagens na alimentação de ruminantes

A inclusão de silagem na dieta de ruminantes, normalmente varia de 35 a 100% da matéria seca, dependente da categoria e do potencial de produção do animal em questão (NRC, 2001). Desta forma este alimento deve ser avaliado não de forma isolada, mas também quanto à parâmetros relativos à alimentação dos animais.

Por se tratar de um alimento volumoso e de uma fonte de carboidratos fibrosos, é importante mensurar sua digestibilidade, sobretudo da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) uma vez que, devido a sua lenta taxa de digestão, é considerado o nutriente mais associado à limitação do consumo de matéria seca (Allen, 1996; Allen, 2000; Mertens, 1987; Van Soest, 1965). Consequentemente a FDN está associada ao desempenho dos animais, pois o consumo e a digestibilidade juntos determinam o consumo de energia digestível, ponto de partida para o fracionamento da energia bruta até energia líquida do alimento, ou seja, o quanto de energia está realmente sendo utilizada pelo animal para realizar funções (NRC, 2001).

Várias técnicas podem ser utilizadas para determinação da digestibilidade dos alimentos. As mais precisas são as técnicas de digestibilidade aparente *in vivo*, entretanto são ensaios normalmente caros, que necessitam de grande número de animais, laboriosos e demorados (Berchielli *et al.*, 2011).

Deste modo busca-se cada vez mais a utilização de técnicas *in vitro*, que são por sua vez de execução mais simples, rápida e menos custosas. Dentre as várias técnicas *in vitro* existentes, a metodologia descrita por Tilley e Terry (1963) ainda é a mais utilizada para mensurar a digestibilidade *in vitro*, entretanto esta técnica passou por algumas modificações.

A metodologia atual, adaptada por Holden, (1999) consiste no acondicionamento de 0,5 g de amostra em sacos de papel filtrante (ANKOM Technology, Fairport, New York, USA), incubadas em suco ruminal e solução tampão por 48 horas, simulando o processo de fermentação que ocorre no rúmen. Após as 48 horas é adicionado ao jarro de digestão pepsina e HCl 6N, para simular a digestão intestinal por mais 24 horas.

Em técnicas de determinação de digestibilidade *in vitro* a dinâmica do rúmen não é considerada, além desta Weiss (1994), resumiu algumas outras fontes de variação da técnica de digestibilidade *in vitro* e destacou a manutenção do pH do meio, tamanho de partícula da amostra, manutenção da anaerobiose, animal doador do inóculo, variação entre animais, espécie animal, horário de coleta do inóculo, dieta do animal doador e tipo de forragem que podem influenciar tanto na acurácia, quanto na precisão da técnica. Portanto cada etapa da técnica deve ser feita da forma mais criteriosa possível.

Como já descrito anteriormente a silagens submetidas à prática da reensilagem podem sofrer deterioração aeróbia no intervalo dos dois processos, no entanto não se sabe o quanto o processo pode prejudicar ou influenciar a qualidade da fermentação, bem como a composição química e consequentemente a digestibilidade do material reensilado.

2.7 Avaliação da qualidade de silagens

A qualidade das silagens pode ser avaliada de várias formas. Jobim *et al.*, (2007) propuseram a avaliação das perdas de matéria seca das silagens, bem como as perdas por meio de gases e efluentes. Os mesmos ressaltam a importância de avaliar a silagem quanto seu valor

nutricional, aliando a qualidade ao consumo e a digestibilidade do material. Ressaltaram também a importância de caracterizar os efluentes, mensurar o tamanho de partícula, realizar a contagem e a caracterização de microrganismos, determinar a atividade de água e ainda a condutividade elétrica. Várias dessas análises exigem estrutura laboratorial e recurso humano especializado, o que torna sua realização difícil na rotina.

Segundo McDonald *et al.*, (1991) as perdas em silagens são dependentes de vários fatores, como teor de matéria seca, tempo de enchimento do silo e tipo de silo, contudo em média as perdas somadas resultam em aproximadamente 20%.

Outra forma alternativa de avaliar a qualidade da fermentação da silagem é por meio dos produtos da fermentação dos microrganismos. A presença e a quantidade dos ácidos orgânicos, sobretudo láctico, acético, propiônico e butírico, bem como a quantidade de nitrogênio amoniacal relativo ao nitrogênio total (N-NH₃) e o pH, são parâmetros que aliados ao teor de matéria seca podem indicar a eficiência de conservação da massa ensilada (Tomich *et al.*, 2003).

Os ácidos orgânicos além de indicadores da qualidade da fermentação da silagem, são responsáveis pela manutenção da mesma em ambiente aeróbio.

Segundo Danner *et al.*, (2003) o principal fator responsável pela estabilidade aeróbia das silagens é o ácido acético. Ácido orgânico de pK_a = 4,75 que em meio ácido, com valor de pH abaixo de 4,0, se apresenta em sua maioria na forma não dissociada. Quando estes compostos ultrapassam a membrana lipofílica dos microrganismos e chegam ao meio intracelular, de pH próximo a sete, se associam novamente. Os microrganismos por sua vez gastam energia ao expulsar o ácido para fora da célula, não conseguindo desta forma crescer.

De acordo com os mesmos autores, outro ácido orgânico que tem potencial para aumentar a estabilidade aeróbia das silagens é o ácido butírico, mesmo que indesejável nas silagens por questões sanitárias.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. Champaign. v. 83, p. 1598-1624. 2000.

ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. *Journal of Animal Science*. Champaign. v. 74, p. 3063-3075. 1996.

BERCHIELLI, T. T.; VEJA GARCIA, A.; OLIVEIRA, S. G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudos de nutrição. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, G. O. *Nutrição de ruminantes*. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011. Cap. 14 p. 415-438.

BERENJI, J.; DHALBERG, J. Perspectives of sorghum in Europe. *Journal of Agronomy and Crop Science*. v. 190, p. 332-338, 2004.

BERNARDES, T. F.; NUSSIO, L. G.; AMARAL, R. C. Top spoilage losses in maize silage sealed with plastic films with different oxygen permeabilities. *Grass and Forage Science*. Oxford, v. 67, n. 1, p. 34-42. 2012.

BERNARDES, T. F.; WEINBERG, Z. Aspectos associados ao manejo na ensilagem. In: REIS, R. A.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. *Forragicultura – Ciência, Tecnologia e Gestão dos Recursos Forrageiros*. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel – ME, 2013. Cap 42, p. 671-680.

BERNARDES, T. F. e RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science*. 97, 1852-1861. 2014.

BOLSEN, K. K.; DICKERSON, J. T.; BRENT, B. E. *et al.* Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos. *Journal of Dairy Science*. Champaign, v. 76, p. 2940-2962. 1993.

BORREANI, G.; BERNARDES, T. F.; TABACCO, E. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological, and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality milk and cheese production chains. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, MG. v. 37, p. 68-77. 2008

DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; BRAUN, R. *Applied and Environmental Microbiology*. 69 (1): 562. 2003.

DOLCI, P.; TABACCO, E.; COCOLIN, L. e BORREANI, G. Microbial Dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. *Applied and Environmental Microbiology*. v.77, p. 7499-7507. 2011.

FARIA JR., W. G.; GONÇALVES, L. C.; PIRES, D. A. A.; RODRIGUES, J. S. A.; RAMIREZ, M. A. *Silagem de sorgo para gado de leite*. In: GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S Alimentos para gado de leite. 1 ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009. Cap. 4, p 43-64.

GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; BORGES, A. L. C. C.; FERREIRA, P. D. S. *Classificação dos alimentos*. In: GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S Alimentos para gado de leite. 1 ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009. Cap. 1, p 1-6.

HOLDEN, L. A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for tem feeds. *Journal of Animal Science*. Champaign. v. 68, p. 3832-3842. 1999.

HOLMES, B. Software applications for sizing silos to maximize silage quality. In: Proceedings of the INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, Piracicaba, 2009. *Proceedings...* Piracicaba: ESALQ – USP, 2009. p. 189-208.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, MG. v. 36 (Suplemento especial), p. 101-119. 2007.

JONSSON, A.; PAHLOW, G. Systematic classification and biochemical characterization of yeasts growing in grass silage inoculated with *Lactobacillus* 427 cultures. *Animal Research and Development*. Tubingen, v. 20, p. 7-22. 1984.

LINDGREN, S.; PETTERSSON, K.; KASPERSSON, A. *et al.* Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. London, v. 36, p. 765-774. 1985.

LINDGREN, S.; OLDENBURG, E.; PAHLOW, G. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 2002. *Proceedings...* p. 503-511.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. RODRIGUES, J. A. S. *Fisiologia da planta de sorgo*. Comunicado técnico 86 – EMBRAPA, 4p. 2003.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. *The biochemistry of silage*. 2 ed. Chalcombe Publications, 1991. p. 305.

McENIRY, J.; O'KIELY, N. J. W.; CLIPSTON, P. D. *et al.* The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass and Forage Science*. v. 62, p. 470-484. 2007.

MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *Journal of Animal Science*. Champaign. v. 64, p. 1548. 1987.

MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, MG. v. 39 (Suplemento especial), p. 183-191. 2010.

MUCK, R. E.; HOLMES, B. J. Factors affecting bunker silos densities. *Applied Engineering in Agriculture*. St Joseph, v. 15, p. 613-619. 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th Ed. Washington: National Academy Press. 381p. 2001.

PAHLOW, G. Ecological studies of epiphytic lactic acid bacteria (Lab) on whole plant maize and in inoculated silage. In: FOOD FOR THOUGHT, 2, 1989, Johnston. *Proceedings...* Johnston: Pioneer Hi-Bred International, 1989.

PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; *et al.* Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E. HARRISON, J. H. (Ed). *Silage science and technology*. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p 31-93. (Monograph, 42).

PITT, R. E. *Silage and hay preservation*. Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1990. p. 53.

PITT, R. E.; MUCK, R. E. PICKERING, N. B. A model of aerobic fungal growth in silage. 2. Aerobic Stability. *Grass and Forage Science*. Oxford, v. 46, p. 301-312. 1991.

RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. G.; SHAFFERT, R. E.; *et al.* BRS 655 – Híbrido de sorgo forrageiro para produção de silagem de alta qualidade. Circular técnica 107. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2008. p. 2.

RODRIGUES, J. A. S.; TARDIN, F. D.; MENEZES, C. B. *et al.* Potencial forrageiro de híbridos de sorgo avaliados em Sete Lagoas-MG e Sinop-MT. XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. In: *Anais...* Águas de Lindóia. p. 2383-2388. 2012.

ROTZ, C. A.; MUCK, R. E. Changes in forage quality during harvest and storage. In: FAHET JR, G.; COLLINS, M. *Forage quality, evaluation and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p. 828-868.

RUPPEL, K. A.; PITT, R. E.; CHASE, L. E.; GALTON, D. M. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. *Journal of Dairy Science*. Champaign, v. 78, p. 141-153. 1995.

SANS, L. M. A.; MORAIS, A. V. C.; GUIMARÃES, D. P. Época de plantio de sorgo. Clima. In: RODRIGUES, J. A. S. (Ed.). *Cultivo do sorgo*. 8. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção, 2).

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two stages technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. Aberystwyth. v. 18, p. 104-111. 1963.

TOMICH, T. R.; PEREIRA, L. G.; GONÇALVES, L. C.; TOMICH, R. G. P.; BORGES, I. *Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação*. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2003. 20p. (Documento, 57)

VAN SOEST, P. J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage in ruminants: Voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. *Journal of Animal Science*. Champaign. v. 24, p. 834-843. 1965.

ZAGO, C.P. Silagem de sorgo de alto valor nutritivo. In: CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; RODRIGUES, J. A. S.; FERREIRA, J. J. *Produção e utilização de silagem de milho e sorgo*. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 2001. p.519-544

WEINBERG, Z. G.; KHANAL, P.; YILDIZ, C.; CHEN, Y.; ARIELI, A. Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. *Grassland Science*. v. 57, p. 46-50, 2011.

WEISS, W. P. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. In: FAHEY JR, G. C.; MOSER, L. E.; MERTENS, D. R.; COLLINS, M. (Ed.). *Forage quality, evaluation and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, 1994. Cap. 16, p. 644-681.

WHITLOW, L. W.; HAGLER JR, W. N. Effects of mycotoxins on the animal: The producer's perspective. In: SILAGE, FIELD TO FEEDBUNK, 1997, Ithaca. *Proceedings...* Ithaca: Cornell University, 1997. p. 222-232.

WILKINSON, J. M; BOLSEN, K. K. LIN, C. J. History of silage. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E. HARRISON, J. H. (Ed). *Silage science and technology*. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p. 1-30.

WINBERG, Z. G.; ASHBELL, G. Changes in gas composition in corn silages in bunker silos during storage and feedout. *Canadian Agricultural Engineering*. Ottawa, v. 36, p. 155-158. 1994.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effects of air on silage. *Journal fo Applied Bacteriology*. Oxford, v. 26. p. 101-116, 1990.

WOOLFORD, M. K. *The silage fermentation*. 4. ed. New York: Marcel Dekker, 1984 p. 350.

4. ARTIGO

Impacto da reensilagem na qualidade e composição da silagem de sorgo com alta umidade após diferentes tempos de exposição ao ar

V.S. Raposo³, J.A.S. Rodrigues⁴, L.C. Gonçalves¹, K. M. Keller², E.M. Lima³, P.H.F. Michel³,
D.G. Jayme¹

¹Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária UFMG, Minas gerais, Brasil

²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária UFMG, Minas Gerais, Brasil.

³Pós-graduação, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária UFMG, Minas Gerais, Brasil

⁴Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA – Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

Running title: **Impacto da reensilagem na qualidade da silagem**

Correspondência

Escola de Veterinária da UFMG. Escola de veterinária da UFMG caixa postal 567. Bairro Parque das Américas. CEP: 31270-901. Belo Horizonte, MG - Brasil - Caixa-postal: 567.

Telefone: (31) 34092191

E-mail: vsraposo01@gmail.com

Resumo

Objetivos: Mensurar o efeito da reensilagem na qualidade e na composição bromatológica das silagens de sorgo com alta umidade reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

Métodos e Resultados: Três partes de quatro do material ensilado foram expostas ao ar e cada terço foi reensilado nos tempos de 12, 24 e 48 horas, respectivamente, mantendo-se um tratamento testemunha sem reensilagem. Não houve efeito da reensilagem na contagem de microrganismos aeróbios, densidade relativa de fungos, estabilidade aeróbia, recuperação de matéria seca, composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca ($p < 0,05$), entretanto nos parâmetros de fermentação houve efeito da reensilagem na concentração de ácido acético ($p < 0,01$), com efeito linear ($p < 0,05$) dos tempos de exposição ao ar.

Conclusão: A reensilagem de sorgo de alta umidade feita com até 48 horas de exposição ao ar não influencia a estabilidade aeróbia, composição química da silagem e digestibilidade *in vitro* do material. Entretanto, durante o processo há aumento linear na concentração de ácido acético em função dos tempos de exposição ao ar.

Significância e impacto do estudo: O efeito da reensilagem de sorgo com alta umidade nunca foi relatado na literatura.

Palavras chave: deterioração, digestibilidade, realocação, reensilagem, ruminantes

Introdução

No Brasil, a silagem é a principal fonte de energia e fibra dos rebanhos leiteiros durante o ano todo em sistemas de confinamento, ou durante o período de escassez de forragens em sistemas que utilizam pastagem no verão (Costa *et al.*, 2013).

Silagens com alta umidade são mais propensas à deterioração aeróbia (Taylor e Kung, 2002), nestes materiais são maiores os riscos de proliferação de microrganismos indesejáveis, bem como a produção de substâncias potencialmente tóxicas, além de redução da palatabilidade e digestibilidade da silagem (Ruxton e Gibson, 1993).

Eventualmente, devido à determinadas condições edafoclimáticas ou perdas nas lavouras, produtores de leite necessitam lançar mão da prática de reensilagem. Esta prática consiste na compra ou aquisição de silagem de uma unidade produtora de origem, esta silagem é desensilada e reensilada no local de destino. O inconveniente é que o material, ao ser desensilado fica exposto ao ar por tempos que são dependentes da distância entre a origem e o destino, geralmente de 12 a 48 horas e do maquinário disponível para realização do processo.

Recentemente foi relatada na literatura o efeito da reensilagem sobre as silagens de trigo e milho em Israel (Chen e Weinberg, 2014). Entretanto, não há relatos na literatura sobre avaliação do efeito da reensilagem na silagem de sorgo, sobretudo no Brasil.

A hipótese é que o processo de reensilagem altera ou modifica a qualidade da fermentação, a contagem de microrganismos aeróbios, a estabilidade aeróbia e a composição da silagem de sorgo com alta umidade. Portanto objetivou-se mensurar o efeito da reensilagem sobre estes parâmetros na silagem de sorgo com alta umidade reensilada após diferentes tempos de exposição ao ar.

Material e métodos:

Ensilagem

O plantio do sorgo foi realizado em 19/12/2012, em cinco canteiros do material controle (ensilagem) e mais cinco canteiros de cada um dos tempos de reensilagem (após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar), totalizando 20 canteiros.

Foi feita adubação de plantio com 400 kg de adubo ha⁻¹, (formulação de 8N-28P-16K + 0,5% de Zn), posteriormente foi feita adubação por cobertura com 100 kg de N ha⁻¹, aos 40 dias após o plantio.

No dia da colheita 19/02/2013, contou-se o número de plantas em uma parcela de dez metros de cada canteiro, estas plantas foram cortadas, pesadas e o resultado foi utilizado para cálculo da população de plantas (158857,14 mil plantas ha⁻¹), bem como da produtividade de matéria verde (69028,57 kg ha⁻¹) e matéria seca (15409,20 kg ha⁻¹).

Posteriormente retiraram-se seis plantas de cada parcela que tiveram suas frações (folha/colmo/panícula) separadas para obtenção dos resultados da participação de cada fração na massa ensilada (Panícula 12,22%; folha 23,21% e colmo 65,56%).

A forragem produzida foi picada e ensilada em silos experimentais (tambores com capacidade de 200 L forrados com sacos de plástico). Após 56 dias três partes de um total de quatro partes do material foi exposto ao ar e cada terço foi reensilado após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar, respectivamente, totalizando quatro tratamentos (0, 12, 24 e 48). As análises foram realizadas após 56 dias contados a partir da reensilagem.

No momento da ensilagem e reensilagem foram acondicionados dentro dos tambores cinco sacos traçadores, (nylon com porosidade de 50 µm, um em cada tambor) para cada

tratamento, totalizando 20 sacos traçadores (repetições). Os mesmos continham amostra de material de peso conhecido e foram submetidas as mesmas alterações do restante do material armazenado nos tambores.

Os dados de temperatura máxima, mínima e média nos dias que a reensilagem foi realizada foram obtidos na estação meteorológica do local onde o experimento foi realizado (Tabela 1).

Tabela 1. Temperaturas diárias (máxima, mínima e média) aferidas durante o processo de reensilagem.

Dia da reensilagem	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura média (°C)
Abertura (8:00)	29,2	9,6	17,6
Reensilagem após 12h (20:00)	29,2	9,6	17,6
Reensilagem após 24h (8:00)	28,9	9,1	18,7
Reensilagem após 48h (8:00)	27,5	11,8	18,8

Fonte: Estação meteorológica EMBRAPA – Milho e Sorgo.

Coleta de amostras

Após 56 dias de fermentação do material reensilado, os sacos traçadores foram retirados dos tambores e pesados para determinação da recuperação de matéria seca, de acordo com metodologia descrita por McDonald *et al.*, (1991).

Destes sacos foram coletadas porções para realização de todas as análises subsequentes.

No dia 0 (abertura do tambor) e no dia da avaliação da perda de estabilidade aeróbia, foram coletadas amostras para realização da contagem de microrganismos aeróbios (leveduras, fungos filamentosos e bactérias ácido lácticas aeróbias). No momento da contagem de

microrganismos, foi feita a identificação dos gêneros dos fungos filamentosos, e das espécies nos casos de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*.

Uma porção de aproximadamente dois quilogramas foi homogeneizada e colocada em baldes plásticos com capacidade de 7L acondicionados em sala climatizada a 25°C para avaliação da estabilidade aeróbia da massa ensilada.

Foi retirada uma porção de aproximadamente um quilograma de silagem para determinação da composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Análises realizadas

Na contagem de microrganismos aeróbios foram pesados 25 g de forragem fresca e adicionados 225 mL de solução peptonada 0,1% (0,1 g de peptona por litro de água destilada). Após agitação por quatro minutos foi retirado 1 mL do extrato para as diluições (10^{-2} a 10^{-6}) em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução peptonada 0,1% estéril. Foi semeado 0,1 mL das diluições em placas de Petri descartáveis contendo o meio Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar (DRBC) que foram incubadas a 25°C, a contagem de fungos filamentosos foi feita após 5-7 dias de incubação. O material foi plaqueado também em Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar (TGY) para contagem de leveduras, após 24, 48 e 72 horas de incubação em estufa com temperatura regulada para 30°C. Para contagem de bactérias ácido lácticas (BAL) o material foi plaqueado em meio Ágar Contagem Padrão (PCA) e a contagem foi feita após 24, 48 e 72 horas de incubação de acordo com metodologia descrita em Pitt e Hocking (2009).

A estabilidade aeróbia (EA) foi medida durante 10 dias (240 h), com aferição de temperatura da massa a cada dez minutos, por meio de sensor digital acoplado a um datalogger

(Intergado®), assumiu-se que houve perda de estabilidade aeróbica quando a temperatura da massa atingiu 2°C acima da temperatura ambiente, de acordo com (Wang e Nishino, 2013). Além desta, mensurou-se o tempo necessário para a massa ensilada atingir a temperatura máxima, segundo metodologia utilizada por (McEniry *et al.*, 2007).

Para identificação dos fungos filamentosos foram utilizadas as chaves de classificação de Pitt e Hocking, (2009). Após identificação determinou-se a densidade relativa de cada gênero encontrado.

No suco das silagens foram mensurados o pH com potenciômetro digital (HI 221 - Hanna Instruments, Woonsocket, USA), os teores de N-NH₃ (destilação em destilador de *Kjedhal*, com óxido de magnésio e cloreto de cálcio, empregando solução receptora de ácido bórico e titulação com ácido clorídrico a 0,1 N) e os teores de ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) por cromatografia líquido-gasosa (Equipamento Waters alliance e2695 com detector PAD 2998).

A recuperação da matéria seca foi estimada de acordo com Jobim *et al.*, (2007), por meio da equação:

$RMSs = 100 - [(MFSe \times MSSe) - (MFSr \times MSSr) \times 100] / (MFSe \times MSSe)$, em que:

RMSs =Recuperação de matéria seca no saco (%); MFSe =Massa de forragem fresca no saco na ensilagem (kg); MSSe =Teor de MS da forragem na ensilagem (%); MFSr = Massa de forragem fresca no saco recuperado (kg); MSSr =Teor de MS da forragem no saco recuperado (%).

No estudo da composição química, as amostras foram pré-secas e processadas em moinho com peneira de 1 mm. Foram determinados a MS a 105°C, a proteína bruta (PB) por meio do método *Kjeldhal*, extrato etéreo (EE) por meio do método *Soxhlet*, segundo AOAC (2000) e os componentes da parede celular pelo método sequencial (fibra insolúvel em detergente neutro –

FDN, fibra insolúvel em detergente ácido – FDA e lignina), conforme Van Soest *et al.* (1991).

Os teores de FDN e FDA foram corrigidos quanto às cinzas e nitrogênio insolúveis em detergente neutro e ácido, respectivamente. Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados por meio da equação proposta pelo NRC

(2001), $CNF = 100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%MM)$, em que: FDN é o teor de Fibra

Insolúvel em Detergente Neutro, PB é o teor de Proteína Bruta, EE é o teor de Extrato Etéreo e MM é Matéria Mineral.

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Tilley e Terry (1963), adaptada por Holden, (1999) para utilização de sacos de papel filtrante e incubação em aparelho DAISY^{II} (ANKOM Technology, Fairport, New York, USA). O fluido ruminal foi coletado de um bovino fistulado, cuja dieta era composta de 10 kg (MS) de silagem de milho e 3 kg (MS) de concentrado comercial com 24% de proteína bruta.

Análises estatísticas

O número de microrganismos foi contado como unidades formadoras de colônia (UFC) e transformados em logaritmo na base 10.

As variáveis foram analisadas em delineamento de blocos ao acaso, entretanto não foi observado efeito do bloco na análise de variância, logo procedeu-se a análise de variância em delineamento inteiramente ao acaso, de acordo com o modelo:

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$, em que:

Y_{ij} = valor da observação j no tempo de reensilagem i; μ = média geral; T_i = efeito do tempo de reensilagem i (i = 0, 12, 24 e 48); e_{ijk} = erro residual.

A identificação dos fungos filamentosos e a densidade relativa foram descritivas. Foram encontrados os coeficientes de correlação de *Pearson* entre todas as variáveis estudadas. As médias dos tratamentos foram submetidas ao teste F pela análise de variância e nas variáveis com significância ($p < 0,05$), procedeu-se o desdobramento dos contrastes ortogonais com objetivo de comparar o T0 (testemunha), com os demais tratamentos (T12, T24 e T48). Nestes casos testou-se também os tempos de exposição ao ar quanto ao efeito linear ou quadrático por meio de contrastes ortogonais.

Para as análises foi utilizado o pacote PROC GLM do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NY).

Resultados

Conforme o objetivo do ensaio foi observado alto teor de umidade na silagem utilizada (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química da silagem utilizada no estudo.

Itens	Material fresco ensilado
MS (g 100 g ⁻¹ MS)	22,35
FDN (g 100 g ⁻¹ MS)	54,68
FDA (g 100 g ⁻¹ MS)	30,05
PB (g 100 g ⁻¹ MS)	6,71
EE (g 100 g ⁻¹ MS)	4,99

Valores da média de análises de cinco réplicas.

Não houve efeito da reensilagem sobre a contagem de fungos filamentosos, leveduras e bactérias ácido lácticas aeróbias no momento da abertura dos silos (Tabela 3).

Tabela 3. Contagem de fungos, leveduras (Lev) e bactérias ácido lácticas aeróbias (BAL) em log UFC g⁻¹, no momento da abertura das silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

Item	Tempos de exposição ao ar				EPM	p-valor	Contrastes ¹	
	0	12	24	48			L	Q
Fungos (log ufc g ⁻¹)	2,84	2,23	2,42	2,75	0,175	NS	-	-
Lev (log ufc g ⁻¹)	2,69	2,23	2,09	2,15	0,160	NS	-	-
BAL (log ufc g ⁻¹)	4,04	2,92	3,65	4,38	0,353	NS	-	-

¹Valores de p dos contrastes testados para efeito linear (L) e efeito quadrático (Q). -, não se aplica, *, p<0,05 **, P<0,01 e NS, não significativo.

Não houve efeito da reensilagem sobre a contagem de microrganismos no momento da avaliação da perda de estabilidade aeróbia, nem sobre a estabilidade aeróbia das silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar (Tabela 4).

Tabela 4. Contagem de fungos, leveduras (Lev) e bactérias ácido láticas aeróbias (BAL) em log UFC g⁻¹, no momento de avaliação da perda da estabilidade aeróbia e a estabilidade aeróbia das silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

Item	Tempos de exposição ao ar				EPM	p-valor	Contrastes ¹	
	0	12	24	48			L	Q
Fungos (log ufc g ⁻¹)	6,90	3,50	6,63	4,79	0,89	NS	-	-
Lev (log ufc g ⁻¹)	6,98	4,39	6,89	5,45	0,93	NS	-	-
BAL (log ufc g ⁻¹)	6,70	2,00	6,62	5,29	0,95	NS	-	-
² EA (h-max°C)	99	120	125	106	12,37	NS	-	-
³ EA (h >2°C)	100	154	83	150	17,90	NS	-	-

¹Valores de p dos contrastes testados para efeito linear (L) e efeito quadrático (Q).

²Estabilidade aeróbia medida pelo tempo gasto para a massa atingir a temperatura máxima.

³Estabilidade aeróbia medida pelo tempo gasto para a massa atingir 2°C acima da temperatura da sala climatizada. -, não se aplica, *, p<0,05, **, P<0,01 e NS, não significativo.

No material ensilado e reensilado não foram identificados cinco gêneros de fungos filamentosos. *Aspergillus* spp. (50%), *Botrytis* spp. (30%), *Acremonium* spp (30%), *Cladosporium* spp. (10%) e *Talaromyces* spp. (10%). Os gêneros comuns *Penicillium* e *Fusarium* não foram isolados. A frequência de fungos do gênero *Aspergillus* em relação aos outros gêneros foi maior em todos os tratamentos, sobretudo no T0. As duas únicas espécies de fungos do gênero *Aspergillus* isoladas foram *A. versicolor* (57%) e *A. clavatus* (43%).

Não foi observado efeito da reensilagem sobre a recuperação de matéria seca, pH, NNH₃, nem sobre as concentrações de ácidos láctico, propiônico e butírico das silagens reensiladas.

Entretanto foi observada influência da reensilagem na concentração de ácido acético ($p < 0,01$), com efeito linear do contraste em função dos tempos de exposição ao ar ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros da qualidade da fermentação, avaliados no suco retirado de silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ar.

Item	Tempos de exposição ao ar				EPM	p-valor	Contrastes ¹	
	0	12	24	48			L	Q
pH	3,79	3,69	3,43	3,96	0,10	NS	-	-
N-NH ₃	7,11	6,57	6,82	6,88	0,57	NS	-	-
Lático (g 100 g ⁻¹ MS)	4,02	6,15	6,96	4,41	0,57	NS	-	-
Acético (g 100 g ⁻¹ MS)	0,94	1,40	1,95	2,09	0,15	**	*	-
Propiônico (g 100 g ⁻¹ MS)	0,26	0,29	0,17	0,36	0,03	NS	-	-
Butírico (g 100 g ⁻¹ MS)	1,16	0,84	0,62	0,47	0,18	NS	-	-
² RMS (%)	107,6	97,78	88,32	91,54	3,26	NS	-	-

¹Valores de p dos contrastes testados para efeito linear (L) e efeito quadrático (Q).

²Recuperação de matéria seca medida em porcentagem da massa ensilada. -, não se aplica, *, $p < 0,05$ **, $P < 0,01$ e NS, não significativo.

Não foi observado efeito da reensilagem na composição química das silagens reensiladas, conseqüentemente a digestibilidade *in vitro* do material não foi alterada com o processo de reensilagem (Tabela 6).

Tabela 6. Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

Item	Tempos de exposição ao ar				EPM	p-valor	Contrastes ¹	
	0	12	24	48			L	Q
MS (g 100 g ⁻¹)	21,83	20,69	22,08	23,01	0,47	NS	-	-
PB (g 100 g ⁻¹ MS)	6,88	6,56	6,79	6,95	0,18	NS	-	-
FDNcp (g 100 g ⁻¹ MS)	62,37	63,98	64,05	66,96	0,87	NS	-	-
FDAcP (g 100 g ⁻¹ MS)	39,05	39,35	41,60	42,65	0,66	NS	-	-
HEM (g 100 g ⁻¹ MS)	23,32	24,62	22,45	24,30	0,35	NS	-	-
CEL (g 100 g ⁻¹ MS)	33,24	34,17	35,53	35,76	0,46	NS	-	-
LIG (g 100 g ⁻¹ MS)	5,81	5,18	6,07	6,89	0,31	NS	-	-
NIDN (g 100 g ⁻¹ MS)	3,76	4,41	3,85	3,68	0,10	NS	-	-
NIDA (g 100 g ⁻¹ MS)	3,00	3,68	3,24	3,11	0,10	NS	-	-
EE (g 100 g ⁻¹ MS)	3,47	4,50	3,71	3,88	0,18	NS	-	-
CNF (g 100 g ⁻¹ MS)	21,37	16,68	20,52	17,05	1,03	NS	-	-
DIVMS (g 100 g ⁻¹ MS)	53,57	49,19	50,50	48,06	0,97	NS	-	-

¹Valores de p dos contrastes testados para efeito linear (L) e efeito quadrático (Q).

-, não se aplica, *, p<0,05 **, P<0,01 e NS, não significativo.

Discussão

Na deterioração aeróbia das silagens, as leveduras são as principais responsáveis pelo início do processo, pois são capazes de crescer em valores de pH baixo e fermentam carboidratos solúveis e ácido láctico. Desta maneira, aumentam o pH da massa permitindo o crescimento de outros microrganismos deterioradores (Pahlow *et al.*, 2003).

A reensilagem realizada com até 48 horas de exposição ao ar não influenciou a contagem de leveduras no momento da abertura, portanto não houve ambiente propício para o desenvolvimento de outros deterioradores. Este resultado se confirmou com as contagens de fungos filamentosos e bactérias ácido lácticas aeróbias, que foram semelhantes entre os tratamentos, demonstrando que até 48 horas de exposição ao ar o ambiente não foi favorável ao crescimento destes (Tabela 2).

A semelhança entre os tratamentos na contagem de leveduras e fungos pode ser explicada pelas temperaturas aferidas nos dias em que ocorreram as reensilagens, que podem ser consideradas limítrofes. No presente estudo, o valor máximo observado foi de 29,2 °C, sendo que altas contagens de leveduras foram observadas a 37°C por Pitt e Muck (1993) e 30°C por Ashbell *et al.*, (2002).

Segundo Pahlow *et al.* (2003), outro fator que também é dependente do crescimento de microrganismos deterioradores é a estabilidade aeróbia. No presente estudo a reensilagem não influenciou a estabilidade aeróbia do material (Tabela 3), resultado que pode ser explicado pela semelhança na contagem de microrganismos no momento de abertura das silagens.

A contagem de microrganismos no momento da perda de estabilidade aeróbia das silagens reensiladas mostrou que a estabilidade foi perdida quando a contagem alcançou

valores acima de 4,32 log UFC g⁻¹ MS (Tabela 3). Valores estes, semelhantes aos encontrados por Fylia *et al.* (2010) que relataram contagens de leveduras de ~5,2 log UFC g⁻¹ MS em silagens de milho expostas a avaliação de estabilidade aeróbia por cinco dias.

Outro fator que pode ter contribuído para manutenção da estabilidade aeróbia é a concentração de ácidos acético e butírico (Tabela 5). Como descrito por Davidson (2007) e Lambert e Stratford (1999), o efeito de ambos os ácidos no controle do crescimento de microrganismos deterioradores, consiste que em pH inferior ao pK_a (4,75 e 4,81 acético e butírico, respectivamente), esses permanecem na forma não dissociada. Esta forma atravessa a membrana das células de leveduras e fungos por transporte sem gasto energético e alcança o citoplasma. Neste ambiente, em função do valor de pH ser próximo a sete, ocorre liberação de íons H⁺ o que implica em gasto de energia para sua expulsão do meio causando a morte da célula.

Os fungos filamentosos, sobretudo dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, são capazes de produzir compostos patogênicos chamados micotoxinas (Lindgren *et al.*, 2002). Na reensilagem com até 48 horas de exposição ao ar, não foram identificados fungos do gênero *Penicillium* nem *Fusarium*, entretanto, fungos do gênero *Aspergillus* foram identificados com maior frequência relativa em todos os tratamentos, demonstrando que a reensilagem quando feita em até dois dias não resultou em aumento destes microrganismos. Contudo, foram identificadas duas espécies deste gênero, *A. versicollor* e *A. clavatus*, que são responsáveis por produzir micotoxinas conhecidamente carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas capazes de causar danos à saúde animal e humana (Sánchez *et al.*, 2005).

Não foi observado efeito da reensilagem na recuperação de matéria seca (Tabela 5). Contudo, observou-se que a utilização da técnica de sacos traçadores em silos experimentais merece ressalvas, pois além de não ser capaz de segregar as perdas por gases e efluentes, ainda

se observou superestimação na recuperação de matéria seca do tratamento testemunha (107,6%). Este resultado é semelhante ao encontrado por Wardynski *et al.*, (1993), que observaram recuperação de 101,1% de matéria seca em silagem de grão úmido. A superestimação da matéria seca pode ser explicada pela entrada de material dentro do saco traçador, sobretudo em materiais com alta umidade, cujo fluxo de componentes solúveis é maior.

Os parâmetros de fermentação são um indicador de qualidade de silagens. A reensilagem não alterou os valores de pH, N-NH₃ e concentrações de ácidos láctico, butírico e propiônico, entretanto influenciou a concentração do ácido acético ($p < 0,01$) com efeito linear em função dos tempos de exposição ao ar ($p < 0,05$) (Tabela 5). Este resultado sugere que mesmo que não tenha havido diferença na contagem de bactérias aeróbias, pode ser que tenha ocorrido uma modificação na população bacteriana em função dos tempos de exposição ao ar com o crescimento de microrganismos capazes de produzir ácido acético ao fermentar outros compostos. De acordo com McDonald *et al.*, (1991), as rotas de fermentação que tem como produto o ácido acético, são menos eficientes e acarretam em perdas variáveis de matéria seca.

Outra fonte de perda relatada por Gebrehanna *et al.*, (2014) é a perda por efluentes, sobretudo em silagens com teor de matéria seca semelhante ao do presente estudo (~20%). Entretanto, além do teor de matéria seca, a quantidade de efluente também é resultante da compactação exercida sobre o material e do equilíbrio do fluxo de líquidos dentro do silo (McDonald *et al.*, 1991). Ocorre que no processo de reensilagem o equilíbrio do fluxo de líquidos é quebrado e o material é submetido à compactação novamente, o que pode resultar em aumento das perdas por efluentes.

Como não houve efeito da reensilagem na composição química do material, por consequência a digestibilidade *in vitro* das silagens reensiladas não foi alterada (Tabela 6).

Diante dos resultados, não houve constatação de deterioração aeróbia de silagens reensiladas, porém vale ressaltar que ao realizar o processo de reensilagem, as perdas por meio de efluentes ou fermentações indesejáveis podem onerar no custo da matéria seca de silagens reensiladas.

Portanto, conclui-se que a prática de reensilagem, quando realizada com até 48 de exposição ao ar, não influenciam a composição química das silagens. Entretanto atenção deve ser dada as possíveis perdas de matéria seca devido à possibilidade de maior produção de efluente e alteração das concentrações de ácido acético.

Agradecimentos

Agradecimento à EMBRAPA – Milho e Sorgo, CAPES e EV/UFMG.

Referências Bibliográficas

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – *Official methods of analysis*. 16 ed. Washington: AOAC, 2000p, 2000

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G.; HEN, Y.; FILYA I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Indian Microbiology and Biotechnology*, v. 28, p. 261-263, 2002.

CHEN, T. e WEINBERG, Z.G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *Journal of Dairy Science*. v. 97, p. 406-410. 2014.

COSTA, J.H.C.; HÖTZEL, M.J.; LONGO, C. e BALCÃO, L.F. A survey of management practices that influence production and welfare of dairy cattle on family farms in southern Brazil. *Journal of Dairy Science*. v. 96, p. 307-317. 2013.

DAVIDSON, P. M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: DOYLE, M. P.; BEUCHT, L. R.; MONTEVILLE, T. J. (Ed). *Food Microbiology: Fundamentals and fronties*. Washington, ASM, 2007.

FYLIA, I. e SUCU, E. The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Science*. v. 65, p. 446-455. 2010.

GEBREHANNA, M.M.; GORDON, R.J.; MADANI, A. *et al.* Silage effluent management: A review. *Journal of Environmental Management*. v. 143, p. 113-122. 2014.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for tem feeds. *Journal of Animal Science*. v. 68, p. 3832-3842. 1999.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, MG. v. 36 (Suplemento especial), p. 101-119. 2007.

LAMBERT, R. J. e STRATFORD, M. Weak-acid preservatives: modeling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology*. v. 79, n. 5 p. 922-928, 1999.

LINDGREN, S.; OLDENBURG, E.; PAHLOW, G. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 2002. *Proceedings...* p. 503-511.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. *The Biochemistry of Silage*. 2. ed. Chalcombe Publications, 1991. p. 305.

McENIRY, J.; O'KIELY, N.J.W.; CLIPSTON, P.D. *et al.* The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass and Forage Science*. v. 62, p. 470-484. 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th Ed. (rev.). Washington: National Academy Press. 381p. 2001.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; *et al.* Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E. e HARRISON, J.H. (Ed). *Silage science and technology*. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p 31-93. (Monograph, 42).

PITT, J.I.; HOCKING, A.D., 2009. *Fungi and Food Spoilage*. 3rd ed. Springer, New York.

PITT, R. E.; MUCK, R. E. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. *Journal of Agricultural Engineering Research*, v. 55, p. 11-26, 1993.

RUXTON, G. D. E GIBSON, G. J. A critical introduction to mathematical modelling of the aerobic deterioration of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 62, p. 209–217. 1993.

SANCHÉS, E.; HEREDIA, N.; GRACÍA, S. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of Agave species. *International Journal of Food Microbiology*. v. 98, p. 271 – 279. 2005.

TAYLOR, C. C. E KUNG, J. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. *Journal of Dairy Science*. v. 85, p. 1526–1532. 2002.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A.A. Two stages technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. Aberystwyth. v. 18, p. 104-111. 1963.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. v.74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

WANG, C. e 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*. 114:1687-1695. 2013.

WARDYNSKI, F.A.; RUST, S.R.; YOKOYAMA, M.T. Effect of microbial inoculation of high moisture corn in fermentation characteristics, aerobic stability, and cattle performance. *Journal of Animal Science*. v.71, p.2246-2252, 1993.

ANEXO I (Coeficientes de correlação de *Pearson*)

	MS	MM	MO	PB	EE	FDN	NIDN	PIDNpb
MS 0.0001	1.00000 0.0001	-0.75316 0.5004	0.75316 0.1726	0.16002 0.0079	0.31749 0.8149	-0.57566 0.0176	-0.05589	-0.52437
MM 0.0001	-0.75316	1.00000 <.0001	-1.00000 0.8894	-0.03322 0.2458	-0.27210 0.0150	0.53547 0.8356	0.04956 0.0675	0.41687
MO 0.0001	0.75316 <.0001	-1.00000	1.00000 0.8894	0.03322 0.2458	0.27210 0.0150	-0.53547 0.8356	-0.04956 0.0675	-0.41687
PB 0.5004	0.16002 0.8894	-0.03322 0.8894	0.03322	1.00000 0.0362	0.47066 0.0212	-0.51135 0.0021	0.64572 0.0003	-0.72025
EE 0.1726	0.31749 0.2458	-0.27210 0.2458	0.27210 0.0362	0.47066	1.00000 0.2100	-0.29297 0.1183	0.36057 0.1021	-0.37619
FDN 0.0079	-0.57566 0.0150	0.53547 0.0150	-0.53547 0.0212	-0.51135 0.2100	-0.29297	1.00000 0.8237	-0.05320 <.0001	0.77181
NIDN 0.8149	-0.05589 0.8356	0.04956 0.8356	-0.04956 0.0021	0.64572 0.1183	0.36057 0.8237	-0.05320	1.00000 0.2087	-0.29377
PIDNpb 0.0176	-0.52437 0.0675	0.41687 0.0675	-0.41687 0.0003	-0.72025 0.1021	-0.37619 <.0001	0.77181 0.2087	-0.29377	1.00000
CIDNms 0.2639	-0.26231 0.2126	0.29139 0.2126	-0.29139 0.3824	-0.20651 0.4238	-0.18941 0.2250	0.28396 0.6170	0.11909 0.3814	0.20693

FDNcp 0.0131	-0.54452 0.0253	0.49857 0.0253	-0.49857 0.0238	-0.50302 0.2451	-0.27249 <.0001	0.98905 0.7400	-0.07919 0.0001	0.74943
FDA 0.0150	-0.53544 0.0581	0.43058 0.0581	-0.43058 0.0123	-0.54824 0.3201	-0.23429 <.0001	0.97909 0.7802	-0.06663 <.0001	0.76855
NIDA 0.6191	-0.11838 0.2868	0.25048 0.2868	-0.25048 0.0143	0.53844 0.9227	-0.02318 0.5678	-0.13590 0.1558	0.32962 0.4484	-0.17970
PIDApb 0.0293	-0.48732 0.0649	0.42049 0.0649	-0.42049 0.0022	-0.64286 0.0451	-0.45250 <.0001	0.80427 0.2846	-0.25157 <.0001	0.81005
CIDAmS	-0.26237 0.2638	0.54769 0.0124	-0.54769 0.0124	-0.00961 0.9679	-0.31589 0.1749	0.01892 0.9369	-0.22520 0.3398	0.07611 0.7498
FDAcp	-0.51516 0.0201	0.39538 0.0844	-0.39538 0.0844	-0.56527 0.0094	-0.21963 0.3522	0.97220 <.0001	-0.07370 0.7575	0.76555 <.0001
LIG 0.0314	-0.48188 0.1277	0.35226 0.1277	-0.35226 0.2271	-0.28271 0.7942	-0.06230 0.0201	0.51517 0.8798	-0.03612 0.0427	0.45726
CNF 0.0049	0.60321 0.0026	-0.63578 0.0026	0.63578 0.3017	0.24312 0.7410	0.07886 <.0001	-0.93875 0.6501	-0.10810 0.0031	-0.62714
DIVMS 0.0259	0.49674 0.1651	-0.32277 0.1651	0.32277 0.1623	0.32484 0.5087	0.15695 <.0001	-0.88192 0.5024	-0.15927 0.0008	-0.68808
pH 0.0948	-0.38376 0.0266	0.49463 0.0266	-0.49463 0.0987	-0.37968 0.4156	-0.19272 0.0068	0.58426 0.6641	-0.10349 0.0050	0.60144

RMSs	0.18930	0.20894	-0.20894	0.45321	0.07129	-0.30677	0.23234	-0.57168
0.4241	0.3767	0.3767	0.0448	0.7652	0.1883	0.3243	0.0085	
NNH3	-0.24543	0.11391	-0.11391	0.00150	-0.35268	-0.04854	0.16624	-0.10570
0.2970	0.6325	0.6325	0.9950	0.1272	0.8390	0.4836	0.6574	
HEM	-0.46587	0.60493	-0.60493	-0.22147	-0.32234	0.76089	-0.07061	0.50905
0.0384	0.0047	0.0047	0.3480	0.1657	<.0001	0.7674	0.0219	
Ce1	-0.33120	0.26447	-0.26447	-0.50744	-0.22500	0.85580	-0.06659	0.64369
0.1537	0.2598	0.2598	0.0224	0.3402	<.0001	0.7803	0.0022	
PEA	-0.38801	0.41149	-0.41149	-0.57212	-0.47332	0.71457	-0.34602	0.51231
0.0909	0.0715	0.0715	0.0084	0.0350	0.0004	0.1351	0.0209	
	CIDNms	FDNcp	FDA	NIDA	PIDApb	CIDAmS	FDACp	LIG
MS	-0.26231	-0.54452	-0.53544	-0.11838	-0.48732	-0.26237	-0.51516	-0.48188
0.2639	0.0131	0.0150	0.6191	0.0293	0.2638	0.0201	0.0314	
MM	0.29139	0.49857	0.43058	0.25048	0.42049	0.54769	0.39538	0.35226
0.2126	0.0253	0.0581	0.2868	0.0649	0.0124	0.0844	0.1277	
MO	-0.29139	-0.49857	-0.43058	-0.25048	-0.42049	-0.54769	-0.39538	-0.35226
0.2126	0.0253	0.0581	0.2868	0.0649	0.0124	0.0844	0.1277	
PB	-0.20651	-0.50302	-0.54824	0.53844	-0.64286	-0.00961	-0.56527	-0.28271
0.3824	0.0238	0.0123	0.0143	0.0022	0.9679	0.0094	0.2271	
EE	-0.18941	-0.27249	-0.23429	-0.02318	-0.45250	-0.31589	-0.21963	-0.06230
	0.4238	0.2451	0.3201	0.9227	0.0451	0.1749	0.3522	0.7942

FDN	0.28396 0.2250	0.98905 <.0001	0.97909 <.0001	-0.13590 0.5678	0.80427 <.0001	0.01892 0.9369	0.97220 <.0001	0.51517 0.0201
NIDN	0.11909 0.6170	-0.07919 0.7400	-0.06663 0.7802	0.32962 0.1558	-0.25157 0.2846	-0.22520 0.3398	-0.07370 0.7575	-0.03612 0.8798
PIDNpb 0.3814	0.20693 0.0001	0.74943 <.0001	0.76855 0.4484	-0.17970 <.0001	0.81005 0.7498	0.07611 <.0001	0.76555 0.0427	0.45726
CIDNms 0.5440	1.00000 0.2641	0.14424 0.8414	0.26222 0.2488	-0.04779 0.3442	0.27048 0.2843	0.22322 0.2942	0.25173	0.24681
FDNcp 0.5440	0.14424	1.00000 <.0001	0.97212 0.5372	-0.14666 <.0001	0.78574 0.9283	-0.02150 <.0001	0.96737 0.0278	0.49143
FDA 0.2641	0.26222 <.0001	0.97212	1.00000 0.4818	-0.16691 <.0001	0.81769 0.6628	-0.10392 <.0001	0.99856 0.0130	0.54486
NIDA 0.8414	-0.04779 0.5372	-0.14666 0.4818	-0.16691	1.00000 0.4750	0.16949 0.8693	-0.03930 0.3812	-0.20702 0.4346	-0.18512
PIDApb 0.2488	0.27048 <.0001	0.78574 <.0001	0.81769 0.4750	0.16949	1.00000 0.6957	-0.09326 <.0001	0.80407 0.1141	0.36447
CIDAmS 0.3442	0.22322 0.9283	-0.02150 0.6628	-0.10392 0.8693	-0.03930 0.6957	-0.09326	1.00000 0.5682	-0.13575 0.8912	0.03269
FDAcp 0.2843	0.25173 <.0001	0.96737 <.0001	0.99856 0.3812	-0.20702 <.0001	0.80407 0.5682	-0.13575	1.00000 0.0129	0.54519
LIG 0.2942	0.24681 0.0278	0.49143 0.0130	0.54486 0.4346	-0.18512 0.1141	0.36447 0.8912	0.03269 0.0129	0.54519	1.00000
CNF 0.5841	-0.13028 <.0001	-0.94725 <.0001	-0.90408 0.9982	-0.00055 0.0013	-0.66652 0.8903	-0.03295 <.0001	-0.89171 0.0282	-0.49036
DIVMS 0.4923	-0.16299 <.0001	-0.87907 <.0001	-0.86484 0.9754	-0.00737 0.0005	-0.70387 0.5030	0.15904 <.0001	-0.85926 0.0289	-0.48851
pH 0.6625	-0.10404 0.0041	0.61192 0.0106	0.55761 0.8856	-0.03438 0.0142	0.53897 0.4765	0.16894 0.0126	0.54667 0.0869	0.39250

RMSs	0.04921	-0.31064	-0.38796	0.17721	-0.40818	0.30736	-0.40288	-0.27195
0.8368	0.1825	0.0910	0.4548	0.0740	0.1874	0.0782	0.2461	
NNH3	0.04987	-0.05603	-0.07261	-0.15955	-0.16577	0.15267	-0.07085	0.06248
	0.8346	0.8145	0.7610	0.5016	0.4849	0.5205	0.7666	0.7936
HEM	-0.14600	0.80577	0.64736	0.03411	0.53034	0.25136	0.62943	0.23284
0.5391	<.0001	0.0020	0.8865	0.0161	0.2851	0.0029	0.3232	
Ce1	0.15520	0.86395	0.86980	-0.13809	0.74386	-0.18073	0.87132	0.06367
	0.5135	<.0001	<.0001	0.5615	0.0002	0.4457	<.0001	0.7897
PEA	0.05566	0.73987	0.69691	-0.19247	0.64183	0.06293	0.69436	0.48380
0.8157	0.0002	0.0006	0.4162	0.0023	0.7921	0.0007	0.0307	

CNF DIVMS pH RMSs NNH3 HEM Ce1 PEA

MS	0.60321	0.49674	-0.38376	0.18930	-0.24543	-0.46587	-0.33120	-0.38801
0.0049	0.0259	0.0948	0.4241	0.2970	0.0384	0.1537	0.0909	

MM	-0.63578	-0.32277	0.49463	0.20894	0.11391	0.60493	0.26447	0.41149
0.0026	0.1651	0.0266	0.3767	0.6325	0.0047	0.2598	0.0715	

MO	0.63578	0.32277	-0.49463	-0.20894	-0.11391	-0.60493	-0.26447	-0.41149
0.0026	0.1651	0.0266	0.3767	0.6325	0.0047	0.2598	0.0715	

PB	0.24312	0.32484	-0.37968	0.45321	0.00150	-0.22147	-0.50744	-0.57212
0.3017	0.1623	0.0987	0.0448	0.9950	0.3480	0.0224	0.0084	

EE	0.07886	0.15695	-0.19272	0.07129	-0.35268	-0.32234	-0.22500	-0.47332
0.7410	0.5087	0.4156	0.7652	0.1272	0.1657	0.3402	0.0350	

FDN	-0.93875	-0.88192	0.58426	-0.30677	-0.04854	0.76089	0.85580	0.71457
<.0001	<.0001	0.0068	0.1883	0.8390	<.0001	<.0001	0.0004	

NIDN	-0.10810	-0.15927	-0.10349	0.23234	0.16624	-0.07061	-0.06659	-0.34602
0.6501	0.5024	0.6641	0.3243	0.4836	0.7674	0.7803	0.1351	

PIDNpb	-0.62714	-0.68808	0.60144	-0.57168	-0.10570	0.50905	0.64369	0.51231
0.0031	0.0008	0.0050	0.0085	0.6574	0.0219	0.0022	0.0209	

CIDNms	-0.13028	-0.16299	-0.10404	0.04921	0.04987	-0.14600	0.15520	0.05566
0.5841	0.4923	0.6625	0.8368	0.8346	0.5391	0.5135	0.8157	

FDNcp <.0001	-0.94725 <.0001	-0.87907 0.0041	0.61192 0.1825	-0.31064 0.8145	-0.05603 <.0001	0.80577 <.0001	0.86395 0.0002	0.73987
FDA <.0001	-0.90408 <.0001	-0.86484 0.0106	0.55761 0.0910	-0.38796 0.7610	-0.07261 0.0020	0.64736 <.0001	0.86980 0.0006	0.69691
NIDA	-0.00055 0.9982	-0.00737 0.9754	-0.03438 0.8856	0.17721 0.4548	-0.15955 0.5016	0.03411 0.8865	-0.13809 0.5615	-0.19247 0.4162
PIDApb	-0.66652 0.0013	-0.70387 0.0005	0.53897 0.0142	-0.40818 0.0740	-0.16577 0.4849	0.53034 0.0161	0.74386 0.0002	0.64183 0.0023
CIDAmS 0.8903	-0.03295 0.5030	0.15904 0.4765	0.16894 0.1874	0.30736 0.5205	0.15267 0.2851	0.25136 0.4457	-0.18073 0.7921	0.06293
FDAcp <.0001	-0.89171 <.0001	-0.85926 0.0126	0.54667 0.0782	-0.40288 0.7666	-0.07085 0.0029	0.62943 <.0001	0.87132 0.0007	0.69436
LIG 0.0282	-0.49036 0.0289	-0.48851 0.0869	0.39250 0.2461	-0.27195 0.7936	0.06248 0.3232	0.23284 0.7897	0.06367 0.0307	0.48380
CNF <.0001	1.00000 0.0053	0.84541 0.4711	-0.59835 0.7133	0.17097 <.0001	0.08765 <.0001	-0.82083 0.0029	-0.77451	-0.62955
DIVMS <.0001	0.84541	1.00000 0.0369	-0.46918 0.0369	0.46923 0.9960	0.00120 0.0008	-0.68760 0.0002	-0.73695 0.0161	-0.53038
pH 0.0053	-0.59835 0.0369	-0.46918	1.00000 0.3645	-0.21418 0.7902	-0.06351 0.0053	0.59890 0.0645	0.42103 0.0004	0.71412
RMSs 0.4711	0.17097 0.0369	0.46923 0.3645	-0.21418	1.00000 0.6864	-0.09628 0.9632	-0.01102 0.1684	-0.32042 0.2808	-0.25351
NNH3 0.7133	0.08765 0.9960	0.00120 0.7902	-0.06351 0.6864	-0.09628	1.00000 0.9792	-0.00624 0.6116	-0.12091 0.4637	0.17378
HEM <.0001	-0.82083 0.0008	-0.68760 0.0053	0.59890 0.9632	-0.01102 0.9792	-0.00624	1.00000 0.0041	0.61301 0.0021	0.64610
Ce1 <.0001	-0.77451 0.0002	-0.73695 0.0645	0.42103 0.1684	-0.32042 0.6116	-0.12091 0.0041	0.61301	1.00000 0.0133	0.54342
PEA	-0.62955 0.0029	-0.53038 0.0161	0.71412 0.0004	-0.25351 0.2808	0.17378 0.4637	0.64610 0.0021	0.54342 0.0133	1.00000