

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Escola de Veterinária**

**Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

Marina Gonçalves Rangel

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO AO AR SOBRE A QUALIDADE DA SILAGEM:  
REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

**Belo Horizonte**

**2023**

Marina Gonçalves Rangel

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO AO AR SOBRE A QUALIDADE DA SILAGEM:  
REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre (a) em Zootecnia.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte

2023

## Ficha catalográfica

R196e Rangel, Marina Gonçalves ,1996 -  
Efeito da exposição ao ar sobre a qualidade da silagem: revisão sistemática e meta-análise/ Marina Gonçalves Rangel. – 2023.  
56f: il

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme  
Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.  
Área de concentração: Produção e Nutrição de Ruminantes.  
Inclui bibliografia.

1- Silagem - Teses - 2 – Valor nutricional - Teses – 3. Zootecnia – Teses –  
I. Jayme, Diogo Gonzaga - II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.085

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### FOLHA DE APROVAÇÃO

**Efeito da exposição ao ar sobre a qualidade da silagem: revisão sistemática e meta-análise**

**MARINA GONÇALVES RANGEL**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **24 de abril de 2023**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

**Guilherme Lobato Menezes**

University of Wisconsin - Madison

**Ricardo Reis e Silva**

Universidade Federal de Minas Gerais

**Diogo Gonzaga Jayme - Orientador**

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 03 de fevereiro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Fabio Luiz Buranelo Toral, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 03/02/2025, às 10:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3932664** e o código CRC **DA22FED1**.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela oportunidade da vida;

Aos meus pais, Marcos e Nazareth pelo amor incondicional, apoio e incentivo;

Ao meu irmão Daniel pelo exemplo e apoio incondicional;

Ao professor Diogo Gonzaga Jayme pela oportunidade, amizade, confiança, exemplo e ensinamentos;

Aos amigos Daniel, Guilherme, Flávia, Isabella, Paulo Henrique e Alan por toda ajuda;

Ao grupo de Forragicultura e Alimentos;

À Escola de veterinária da UFMG e às amizades que ela me possibilitou, pelos momentos ao longo dessa etapa;

A todos que de alguma forma participaram na execução deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

“Lutei o bom combate, terminei a corrida e permaneci fiel. ”

2 Timóteo 4:7

## RESUMO

Esse estudo teve como objetivo realizar uma revisão sistemática e meta-análise para avaliar o efeito da exposição ao ar na composição química e valor nutricional em silagens reensiladas. Após seleção dos artigos nas bases de dados *Cochrane Library*, *Embase*, *Scopus*, *Web of Science*, *LILACS* e *MEDLINE-PubMed* e busca manual em periódicos científicos e nas referências dos artigos selecionados na revisão sistemática, foram identificados 287 artigos publicados até maio de 2022. Onze ensaios clínicos randomizados elegíveis para revisão foram selecionados. Os dados foram agrupados em subgrupos pelo tipo de aditivo (químico; microbiano; sem aditivo), tipo de forragem (milho; sorgo; cana-de-açúcar; capim Napier; trigo) e por tempo de exposição ao ar ( $\leq 12$  horas; entre 13 e 24 horas;  $\geq 36$  horas). A meta-análise foi realizada usando o pacote “meta” do software R. Os dados foram analisados usando o modelo de efeitos aleatórios e a diferença média bruta com um intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ). A exposição ao ar das silagens reensiladas aumentou ( $p < 0,05$ ) o teor de MS (13,94 g/kg MS), de PB (1,41 g/kg MS) e de FDN (9,04 g/kg MS). O teor de FDA apenas aumentou ( $p = 0,002$ ) (2,27 g/kg MS) pela utilização de inoculante microbiano. As concentrações de NIDA não aumentaram ( $p > 0,05$ ) na meta-análise geral, mas aumentaram ( $p = 0,008$ ) nas silagens de sorgo (0,66 g/kg MS). A DIVMS diminuiu ( $p = 0,047$ ) (12,8 g/kg MS), bem como o teor de CNF ( $p = 0,008$ ) (15,6 g/kg de MS). O teor de MM aumentou ( $p = 0,006$ ) apenas nas silagens de sorgo. O teor de CSA diminuiu ( $p < 0,05$ ) nas silagens de sorgo (8,60 g/kg MS) e cana-de-açúcar (17,06 g/kg MS), mas as perdas comparadas ao grupo controle foram duas vezes maiores em silagens de cana-de-açúcar. O pH aumentou ( $p < 0,05$ ) (0,07) com a exposição ao ar. A concentração de  $\text{NH}_3\text{-N}$  diminuiu ( $p < 0,05$ ) (1,42 g/kg N total), assim como de ácido lático (2,64 g/kg MS). A reensilagem aumentou ( $p < 0,05$ ) o teor de ácido acético (6,32 g/kg MS) e de ácido butírico (0,81 g/kg MS), mas não teve efeito sobre a concentração de ácido propiônico ( $p > 0,05$ ). A contagem de fungos no momento da abertura em silagens sem inoculantes diminuiu ( $p < 0,05$ ) (0,61  $\log_{10}$  ufc/g) quando comparada ao grupo controle. A reensilagem reduziu ( $p = 0,002$ ) a perda por gás (5,25% MS), porém a perda por efluentes aumentou ( $p < 0,05$ ) (16,33 g/kg MF). A perda de MS total aumentou ( $p < 0,05$ ) em silagens de milho (21,2% MS) e diminuiu ( $p < 0,05$ ) em silagens de cana-de-açúcar (29,3% MS). A exposição ao ar de silagens reensiladas reduziu o valor nutricional. Mais pesquisas sobre o efeito da reensilagem no desempenho animal são necessárias para avaliar a condução dessa prática.

**Palavras-chave:** ensilagem; realocação; reensilagem.

## ABSTRACT

This study aimed to carry out a systematic review and meta-analysis to evaluate the effect of aerobic exposure in chemical composition and nutritional value in reensiling silages. After article selection using the Cochrane Library, Embase, Scopus, Web of Science, LILACS and MEDLINE-PubMed databases and a manual search of scientific journals and the references of articles selected in the systematic review, 287 articles published through May 2022 were identified. Eleven randomized control trials eligible for review were selected. Data were grouped into subgroups by the additive type (chemical; microbial; no additive), forage type (maize; sorghum; sugarcane; Napier grass; wheat) and air exposure time ( $\leq 12$ h; between 13 and 24h;  $\geq 36$ h). The meta-analysis was performed using the “meta” package of R software. The data were analyzed using the random effects model and the raw mean difference with a 95% confidence interval ( $p < 0.05$ ). The aerobic exposure of reensiling silages increased ( $p < 0.05$ ) the content of DM (13.94 g/kg DM), of CP (1.41 g/kg DM) and of NDF (9.04 g/kg DM). The content of ADF just increased ( $p = 0.002$ ) (2.27 g/kg DM) in use of microbial additive. The content of ADIN increased in sorghum silages (0.66 g/kg DM). The DIVMD reduced ( $p = 0.047$ ) (12.8 g/kg DM), as NFC ( $p = 0.008$ ) (15.6 g/kg DM). The content of MM increased ( $p = 0.006$ ) just in sorghum silages. The content of WSC reduced ( $p < 0.05$ ) in sorghum silages (8.60 g/kg DM) and sugarcane (17.06 g/kg DM), but the losses compared to control group were twice as much as in sugarcane silage. The pH increased ( $p < 0.05$ ) in sorghum with aerobic exposure. The  $\text{NH}_3\text{-N}$  reduced ( $p < 0.05$ ) (1.42 g/kg N total), as lactic acid (6.32 g/kg DM). Reensiling increased ( $p < 0.05$ ) acetic acid (6.32 g/kg DM) and butyric acid (0.81 g/kg DM), but no effect in propionic acid content ( $p > 0.05$ ). The mould count at silage opening without additives reduced ( $p < 0.05$ ) (0.61  $\log_{10}$  ufc/g) when compared a control group. The reensiling reduced ( $p = 0.002$ ) gas loss (5.25% DM), although effluente loss increased ( $p < 0.05$ ) (16.33 g/kg FM). The total dry matter loss increased ( $p < 0.05$ ) in maize silages (21.2% DM) and reduced ( $p < 0.05$ ) in sugarcane silages (29.3% DM). The aerobic exposure of reensiling silages reduced the nutritional value. Further research is needed about the effect of reensiling in animal performance for evaluate the conduct of this practice.

**Key-words:** ensiling; reensiling; relocation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma dos estudos incluídos	26
Figura 2 – Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para MS, PB, FDN e FDA	30
Figura 3 – Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para LIG, EE, MM e DMS	31
Figura 4 – Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para EA, CNF, CSA e contagem de fungos	32
Figura 5 – Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para contagem de leveduras e de bactérias, pH e NH <sub>3</sub> -N/NT	33
Figura 6 – Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para teor de ácido láctico, ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico	34
Figura 7 – Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para perda por gases, por efluentes e de MS total	35

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Características do tempo de exposição ao ar, tipo de forragem, tipo de aditivo e país de realização dos estudos selecionados 27
- Tabela 2 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre a composição química (g/kg de MS) 27
- Tabela 3 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre o perfil fermentativo (g/kg de MS) e estabilidade aeróbica (h) 28
- Tabela 4 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre a contagem microbiana total ( $\log_{10}$  ufc/g) na abertura da silagem e na perda de estabilidade 37
- Tabela 5 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre o perfil fermentativo (g/kg de MS) e estabilidade aeróbica (h) 38
- Tabela 6 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre a contagem microbiana total ( $\log_{10}$  ufc/g) na abertura da silagem e na perda de estabilidade 40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CNF Carboidratos não fibrosos  
CSA Carboidratos solúveis em água  
CO<sub>2</sub> Dióxido de carbono  
DIVMS Digestibilidade *in vitro* da matéria seca  
EA Estabilidade aeróbia  
EE Extrato etéreo  
FDA Fibra insolúvel em detergente ácido  
FDN Fibra insolúvel em detergente neutro  
LIG Lignina  
MM Matéria mineral  
MS Matéria seca  
NIDA Nitrogênio insolúvel em detergente ácido  
NIDN Nitrogênio insolúvel em detergente neutro

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1 Produção de silagem de qualidade .....	12
2.2 Processo fermentativo .....	14
2.3 Microrganismos envolvidos na deterioração aeróbica .....	16
2.4 Estabilidade aeróbica .....	17
2.5 A reensilagem .....	17
3. INTRODUÇÃO .....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
4.2. Protocolo e registro .....	21
4.3. Critérios de elegibilidade .....	21
4.4. Fontes de informação e pesquisa .....	21
4.5. Seleção de estudos e processo de coleta de dados .....	22
4.6. Itens de dados .....	22
4.7. Risco de viés em estudos individuais e qualidade metodológica .....	22
4.8. Medidas sumárias e síntese de resultados .....	23
5. RESULTADOS .....	25
5.1. Caracterização do estudo .....	25
5.2. Risco de viés de publicação .....	29
5.3. Composição química, perfil microbiológico e fermentativo e estabilidade aeróbica .....	35
6. DISCUSSÃO .....	42
7. CONCLUSÃO .....	44
8. REFERÊNCIAS .....	45

## **1. INTRODUÇÃO**

A silagem é o principal alimento volumoso conservado utilizado em sistemas de produção de ruminantes. A forrageira é picada e acondicionada no silo que, após compactação e vedação, cria um ambiente anaeróbico que permite a proliferação de microrganismos que, ao consumirem substratos, principalmente açúcares e carboidratos solúveis, produzem ácidos orgânicos, sobretudo o lático, o que possibilita a redução do pH do meio e a conservação do alimento.

Porém, muitos produtores encontram dificuldades na produção de silagem de qualidade, seja por mau planejamento forrageiro, ausência de maquinários e mão-de-obra ou perdas excessivas durante esse processo que inviabilizam a confecção desse alimento. Diante dos desafios, muitas fazendas têm se especializado na produção e comercialização de silagem de qualidade. Entretanto, há o inconveniente da exposição ao ar, por horas ou mesmo dias, visto que a silagem precisa ser aberta, transportada, recompactada e reensilada na propriedade de destino, o que pode reduzir a qualidade nutricional do alimento através da deterioração aeróbica, tendo em vista a proliferação de microrganismos aeróbicos indesejáveis.

Embora muito empregada no Brasil, e em outras partes do mundo, como China e Israel, a prática de reensilagem é realizada de forma empírica, dado a escassez de trabalhos publicados acerca dessa temática, o que impossibilita mensurar a resposta média da reensilagem em relação às perdas nutricionais e ao processo fermentativo. Diante disso, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito da exposição ao ar antes da reensilagem na composição química e valor nutricional em silagens reensiladas através de revisão sistemática e meta-análise.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Produção de silagem de qualidade**

Anteriormente, a produção de carne e leite era majoritariamente realizada em sistema de pastejo, sendo necessário uma suplementação de alimento volumoso nos períodos de escassez, como o inverno, para a manutenção do desempenho animal (McDonald et al., 1991). Há alguns anos, com o avanço de biotecnologias e melhoramento genético, a pecuária leiteira

tem investido e se concentrado em sistemas confinados, como o *free-stall* e *compost barn*, assim como a terminação de bovinos de corte em confinamentos especializados. Com isso, torna-se necessário a utilização desses alimentos volumosos conservados, como a silagem, durante todo o ano.

A ensilagem é o principal método de conservação de alimentos volumosos em sistemas de produção de ruminantes (Bernardes e Rêgo, 2014). A prática consiste no armazenamento de forrageiras úmidas e picadas em silos, que posteriormente são vedadas e acondicionadas em um ambiente anaeróbico. Isso possibilita o crescimento de microrganismos, sobretudo bactérias ácido láticas, que consomem, principalmente, carboidratos solúveis e produzem ácidos orgânicos, como o lático. Dessa forma, há uma redução no pH do meio e o alimento é conservado (Kung Jr. et al., 2018).

Para a confecção de uma silagem de qualidade, os produtores devem se atentar para fatores como cultura escolhida, teor de MS no momento da colheita, maquinários, mão-de-obra, estrutura de armazenamento do alimento, densidade de compactação, utilização ou não de aditivos e manejo de retirada e alimentação no momento de abertura (Bernardes e Rêgo, 2014). A cultura, o teor de umidade e a velocidade de eliminação do O<sub>2</sub> da massa ensilada são os principais fatores que influenciam a fermentação e conservação do alimento (Wilkison et al., 2003).

Portanto, para que o processo de ensilagem seja bem-sucedido, é fundamental que haja uma compactação do material ensilado, através do ajuste dos tratores e o tempo de movimentação, bem como uma vedação eficiente. Essas duas etapas podem garantir que o alimento ficará acondicionado em um ambiente anaeróbico. Bernardes (2016) avaliou diferentes pesos e materiais, como pneus e solo, sobre o filme plástico e o efeito de impermeabilização do silo, mostrando que um peso sobre a silagem é eficaz na expulsão e penetração do O<sub>2</sub>, minimizando as perdas na qualidade do alimento causada pela presença de microrganismos aeróbicos.

Além disso, uma estratégia que tem sido amplamente discutida para melhorar a fermentação é a aplicação de inoculantes na silagem, podendo ser microbianos, químicos, enzimáticos ou uma mistura entre eles (Zopollatto et al., 2009). Porém, os resultados de sua eficácia ainda são controversos. Mulrooney e Kung (2008) observaram menor eficiência em inoculantes microbianos quando a temperatura ambiente foi maior que 35°C. Oliveira et al. (2017) concluíram, através de uma meta-análise, que a utilização de inoculantes com bactérias homo e heterofermentativas melhorou a fermentação e a recuperação de MS em gramíneas

tropicais e temperadas, porém não houve efeito sobre silagens de milho, sorgo e cana-de-açúcar. Os autores também não observaram efeito sobre a digestibilidade da MS e eficiência alimentar de bovinos de leite. Contudo, Menezes et al. (2022) observaram que o uso de inoculante microbiano contendo bactérias homofermentativas aumentou a qualidade da silagem e o consumo de MS em ovinos. Além disso, constataram que microrganismos heterofermentativos aumentaram a estabilidade aeróbica de silagens inoculadas quando comparadas às não inoculadas.

Em outro estudo realizado por Menezes et al. (2022), em meta-análise, os autores confirmaram que a utilização de bactérias homofermentativas, mistura de homo e heterofermentativas, aditivos químicos e mistura entre microbiano e químico em silagens aumentaram o ganho de peso em bovinos de corte. Ainda, os aditivos químicos foram capazes de aumentar o consumo de MS, bem como o peso de carcaça e a eficiência alimentar.

Para reduzir as perdas durante esse processo, é importante que a densidade do silo seja ajustada adequadamente. A recomendação baseia-se em  $700 \text{ kg/m}^3$ , pelo menos (Holmes, 2003). A densidade, aliada ao grau de maturidade e umidade da cultura ensilada, estão relacionados diretamente com a porosidade do alimento. A porosidade, nada mais é, do que a quantidade de poros entre as partículas sólidas do material ensilado. Esses fatores condicionam a taxa de movimentação do ar e conseqüentemente o grau de deterioração aeróbica (Holmes, 2009). A recomendação de porosidade é de 0,40, sendo alcançado com teor de MS entre 30 e 40%.

## **2.2. Processo fermentativo**

O processo de ensilagem é didaticamente dividido em quatro etapas: (1) fase aeróbica, caracterizada pelo acondicionamento da forrageira picada no silo após a colheita, momento em que a planta ainda respira; (2) fase ativa da fermentação, visto que o silo foi compactado, vedado, com a eliminação do  $\text{O}_2$  da massa ensilada e redução do pH; (3) fase de estabilidade, em que os microrganismos consumiram os substratos disponíveis e estão “inativos” conservando o alimento; (4) fase de abertura e alimentação, caracterizada por exposição ao oxigênio e oferta aos animais (Borreani et al., 2018).

Na primeira etapa do processo de ensilagem, a forrageira continua respirando após ser colhida, e conseqüentemente produz água, calor e  $\text{CO}_2$  (Borreani et al., 2018). É importante que essa fase seja concluída rapidamente, visto que essa condição aumenta a temperatura da silagem

e pode ocasionar perdas no valor nutricional do alimento. Brüning et al., (2017) atrasaram a vedação do silo em quatro dias e observaram redução de 65% na fração de carboidratos solúveis das silagens avaliadas. Weiss et al., (2016) observaram aumento na contagem de enterobactérias e na concentração de ácido acético ocasionados pelo atraso na vedação do silo. Essas características estão diretamente relacionadas a diminuição da palatabilidade do alimento e consequentemente no consumo.

A segunda etapa, condição em que o silo se encontra sem a presença de oxigênio e com pH ácido, possibilita o crescimento de microrganismos anaeróbicos epífitos que utilizam carboidratos solúveis como substrato e produzem ácidos orgânicos, principalmente o lático, conservando o alimento ensilado (Pahlow et al., 2003). A população mais comumente encontrada nesse momento é a de bactérias ácido lácticas, mas também leveduras são vistas (Muck et al., 2010). A diversidade da população de microrganismos nessa etapa da ensilagem depende da cultura, das condições climáticas e de umidade, bem como de condições sanitárias (Borreani et al., 2018). Essa etapa também é determinada por produção de gases e efluentes, sinais característicos do processo fermentativo (Pahlow et al., 2003).

A fase de estabilidade é caracterizada por redução na atividade dos microrganismos e da temperatura do silo, desde que tenha sido vedado adequadamente e o O<sub>2</sub> excluído da massa ensilada (Borreani et al., 2018). Nesse período, apenas enzimas que toleram um pH ácido ficam ativas e continuam o processo de conservação através de hidrólise dos carboidratos estruturais, contribuindo para o aumento no fluxo de carboidratos solúveis em água. As leveduras, bacilos e clostrídios ficam dormentes e só se tornarão ativos no momento de abertura da silagem (Pahlow et al., 2003).

Após o período adequado de fermentação e conservação do alimento ensilado, o silo é novamente aberto e exposto ao ar. Com isso, microrganismos aeróbicos começam a crescer, respirar e consumir substratos solúveis (Borreani et al., 2018). Os primeiros grupos a se desenvolver são as leveduras assimiladoras de lactato e bactérias do gênero *Acetobacter*, que, ao aumentarem o pH do meio, possibilitam o crescimento de fungos, bacilos e outros grupos de bactérias, capazes de aumentar a temperatura da silagem e continuar o processo de deterioração (Kung Jr. et al., 2018). Nesse momento, as perdas nutricionais podem chegar até 70% da MS, principalmente na superfície e nas laterais do silo, caracterizadas por esgotamento das frações de carboidratos e ácidos orgânicos (Bernardes et al., 2012).

Muitas vezes a deterioração não será visível, sendo possível confirmá-la através do aumento da temperatura da silagem. Quando a contagem de fungos é maior que 5 log<sub>10</sub> ufc/g, sendo

reconhecida através de coloração esbranquiçada e odor forte, estima-se que as perdas nutricionais sejam de 20%. Uma contagem de  $6 \log_{10}$  ufc/g indica perdas de 40% (Bernardes et al., 2012; Lima et al., 2017). Além de perdas nutricionais e econômicas, o desempenho e a saúde animal podem ser comprometidos, visto que microrganismos patogênicos, como fungos filamentosos, podem se desenvolver e produzir micotoxinas na silagem, que podem passar para o leite, além de reduzirem o consumo e a digestibilidade do alimento (Ogunade et al., 2018).

### **2.3. Microrganismos envolvidos na deterioração aeróbica**

As bactérias ácido lácticas consomem os açúcares e os demais substratos disponíveis na silagem e obtêm o ácido láctico como produto final, principalmente (Pahlow et al., 2003). Os microrganismos são divididos em homofermentativos, com a produção de 2 moles de ácido láctico a partir de 1 mol de glicose, e em heterofermentativos, produzindo 1 mol de ácido láctico, 1 mol de CO<sub>2</sub>, 1 mol de ácido acético e 1 mol de etanol (Muck, 2010). As bactérias ácido lácticas se desenvolvem, principalmente, na primeira etapa de fermentação, em que o meio se torna anaeróbico, e são responsáveis por dominar o processo fermentativo (Rooke et al., 2003).

As leveduras podem se desenvolver quando o oxigênio penetra na silagem no momento de armazenamento ou na abertura, sendo responsáveis pelo início da deterioração aeróbica do alimento conservado (Pahlow et al., 2003). Essa característica pode ser explicada pela facilidade com que esse grupo consegue crescer em meio ácido, sobretudo em pH menor do que 4, normalmente observado em silagem (Muck, 2010).

A partir disso, o pH aumenta e possibilita o crescimento de outros microrganismos deterioradores, como os fungos filamentosos. As principais preocupações relacionadas a esse grupo são a produção de micotoxinas, que representa um risco de saúde humana e animal, interferindo diretamente no desempenho (Ogunade et al., 2018), bem como pelas perdas econômicas, já que quando são aparentes na silagem, representam perda considerável do alimento (Muck, 2010). Após o começo da deterioração pelas leveduras, as bactérias ácido acéticas, principalmente do gênero *Acetobacter*, também podem se desenvolver e representar perdas significativas, visto que produzem água, calor e CO<sub>2</sub> (Borreani et al., 2018).

As enterobactérias são anaeróbicas facultativas, a principal fonte de gás no silo e as principais competidoras de substrato com as bactérias ácido lácticas (Muck, 2010). Esse grupo têm o ácido acético, succínico e 2,3-butanodiol como produtos da fermentação. Os bacilos, que se desenvolvem através de endosporos, estão envolvidos com a deterioração aeróbica a partir

das leveduras e aumento do pH da massa ensilada e podem ser prejudiciais pois aumentam o pH e a temperatura no silo (Muck, 2010). Além disso, esse grupo está relacionado com a contaminação durante a ensilagem.

As bactérias do gênero *Clostridium spp.*, formadoras de endosporos, são importantes pois fermentam ácido lático, aminoácidos, carboidratos e açúcares e obtêm como produto final amônia, aminas, ácido butírico, ácido acético, CO<sub>2</sub> e calor, sendo, portanto, indesejáveis durante o processo de conservação da silagem (Pahlow et al., 2003). Essas características podem reduzir a palatabilidade, digestibilidade e consumo, com impacto direto no desempenho animal (Queiroz et al., 2018).

#### **2.4. Estabilidade aeróbica**

Após o contato da silagem novamente com o oxigênio, o crescimento de microrganismos aeróbicos culmina no início da deterioração aeróbica da silagem. A estabilidade aeróbica é definida como a duração do início da exposição ao ar até o começo da deterioração. Nesse momento, há aumento na produção de CO<sub>2</sub>, temperatura e do pH, bem como diminuição na concentração de substratos (Pahlow et al., 2003). Isso ocorre pelo aumento na contagem de microrganismos deterioradores e pela fermentação de substratos solúveis, sobretudo glicose. Embora exista diversas metodologias descritas na literatura para mensuração da perda de estabilidade aeróbica, a mais utilizada é o aumento da temperatura no silo em até 2°C acima da temperatura ambiente através da utilização de termômetros (McEniry et al., 2007).

#### **2.5. A reensilagem**

Condições desafiadoras podem inviabilizar ou impedir a confecção de silagem nas propriedades. Diante desse cenário, muitos produtores têm se especializado na produção e comercialização desse alimento conservado (Michel et al., 2016; dos Anjos et al., 2018). Por isso, uma alternativa adotada em algumas partes do mundo para enfrentar esses desafios é a reensilagem, que consiste na compra de silagem de uma propriedade para ensilar novamente em outra, cujo processo é o mesmo, abertura do silo, transporte, segunda compactação, vedação e uma nova ensilagem (Santos et al., 2021).

Chen e Weinberg (2014) realizaram um experimento em Israel, e submeterem silagem de milho e de trigo, inoculadas ou não, a exposição ao ar por até 48 horas e observaram redução

na digestibilidade *in vitro* da MS e da FDN, além do aumento na concentração de etanol. Contudo, não observaram alterações em outras variáveis de composição química.

Michel et al., (2016) avaliaram silagens de sorgo reensiladas após exposição ao ar por até 12 horas e também observaram redução na digestibilidade *in vitro* da MS em 5,35% e aumento de 71,2% na perda por efluentes, mas as variáveis de composição química não foram afetadas por esse tratamento. Dos Anjos et al., (2018) também reensilaram sorgo e expuseram ao ar por até 12 horas e observaram aumento na fração fibrosa e diminuição na concentração de carboidratos não-fibrosos, o que reduziu a digestibilidade *in vitro* da MS, além de maior perda por efluentes e por gases quando comparado às silagens não reensiladas. De Lima et al., (2020) também avaliaram silagens de sorgo que foram expostas ao ar por até 120 horas e constataram aumento no teor de MS e na fração fibrosa e redução na concentração de carboidratos solúveis e na digestibilidade *in vitro* da MS das silagens reensiladas quando comparadas ao grupo controle.

Lima et al., (2016) expuseram silagens de milho ao ar por até 48 horas e observaram aumento na concentração de lignina e no pH, mas nenhum outro efeito sobre as variáveis de composição química, perfil fermentativo e microbiano e estabilidade aeróbica. Coelho et al., (2018) também reensilaram silagens de milho, com exposição ao ar de até 36 horas e verificaram aumento no pH, no teor de MS e na fração fibrosa, assim como redução de 6,15% na digestibilidade *in vitro* da MS e no conteúdo de carboidratos não-fibrosos.

Faria et al., (2020) avaliaram o efeito da exposição ao ar sobre silagens de cana-de-açúcar reensiladas por até 24 horas e constataram aumento no teor de MS, FDN e MM, e redução na concentração de carboidratos não-fibrosos. É importante ressaltar a cautela e o planejamento ao reensilar cana-de-açúcar, dado sua particularidade em relação a fermentação, excesso de fração fibrosa e de perdas por efluentes.

Santos et al., (2021) avaliaram o efeito da reensilagem sobre silagens de sorgo expostas ao ar por até 24 horas, bem como o consumo e a eficiência alimentar de ovelhas. Os autores observaram aumento no teor de MM e EE, além de redução na digestibilidade *in vitro* da MS e no teor de carboidratos não-fibrosos. Entretanto, os autores não observaram diferença significativa nas variáveis de eficiência alimentar, apenas redução na digestibilidade da FDN. Esse trabalho indica, ainda, a importância de avaliar o efeito de silagens reensiladas sobre o desempenho animal, dado a escassez de trabalhos publicados acerca dessa temática.

Queiroz et al., (2021) avaliaram o efeito da reensilagem de silagens de milho, inoculadas com cepas microbianas, expostas ao ar por até 24 horas sobre a qualidade, composição química,

consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio em ovinos. Os autores constataram aumento no teor de  $\text{NH}_3\text{-N/NT}$  e no de PB, além de diminuição no teor de ácido láctico. Porém, não observaram nenhum efeito sobre as demais variáveis de composição química. Em relação as variáveis de desempenho animal, não houve diferença significativa sobre o consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio.

Tian et al., (2022) avaliaram o efeito da reensilagem sobre silagem de milho exposta ao ar por até 48 horas e não observaram diferenças significativas sobre o valor nutricional e qualidade de fermentação dos alimentos. Entretanto, foi observado aumento na contagem de bactérias do gênero *Acetobacter*, *Methylobacterium*, *Clostridium*, *Paenibacillus*, *Pleurocaspia* e *Bacillus*. Yin et al., (2021) submetem silagem de Capim Napier (*Pennisetum purpureum*) a reensilagem após exposição ao ar por até 48 horas e observaram redução no teor de ácido láctico e acético associado com o aumento na contagem de leveduras nas silagens expostas por mais de 24 horas. Além disso, verificaram diminuição no teor de carboidratos solúveis em água, mas não em outras variáveis da composição química.

## **EFEITO DA EXPOSIÇÃO AO AR SOBRE A QUALIDADE DA SILAGEM: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

### **3. INTRODUÇÃO**

A ensilagem é o principal método de conservação de forragens úmidas no Brasil (Bernardes & Rêgo, 2014). Embora a silagem seja o principal alimento volumoso oferecido para ruminantes, a produção com qualidade pode ser um desafio nas propriedades devido ao mau planejamento forrageiro, ausência de mão de obra e maquinários, limitações climáticas e topográficas (Bernardes et al., 2018). Uma estratégia adotada no Brasil e em outras partes do mundo, como China e Israel, é a reensilagem. Essa estratégia envolve abertura do silo, transporte, compactação e nova ensilagem.

Durante o processo de reensilagem, há a exposição ao ar, por horas ou até mesmo dias (Michel et al., 2016), o que torna a silagem susceptível a deterioração por microrganismos indesejáveis, como as leveduras, fungos e bactérias aeróbicas que utilizam ácido lático e carboidratos solúveis como fonte energética para o crescimento (Pahlow et al., 2003). Como consequência, pode ocorrer aumento do pH e perda de carboidratos solúveis e interferir diretamente na qualidade nutricional e fermentativa da cultura ensilada.

Outro fator que pode ser observado em condições de exposição ao ar é o aumento no teor da fração fibrosa, que pode ser causado, principalmente, pela redução de carboidratos solúveis, resultado do aumento da temperatura e do pH causado por esses microrganismos (Kung Jr. et al., 2018). Por esse motivo é importante conhecer o período máximo permitido de exposição ao ar do material de forma a minimizar os efeitos negativos sobre o alimento.

Diversos estudos primários avaliaram o efeito da reensilagem sobre a qualidade da silagem de milho (Chen e Weinberg, 2014; Lima et al., 2016; Coelho et al., 2018; Queiroz et al., 2021; Tian et al., 2022;), sorgo (Michel et al., 2016; dos Anjos et al., 2018; De Lima et al., 2020; Santos et al., 2021), cana-de-açúcar (Faria et al., 2020), trigo (Chen e Weinberg, 2014) e capim Napier (*Pennisetum purpureum*) (Yin et al., 2021). Entretanto, os estudos não permitem mensurar uma resposta média do processo de reensilagem em relação as perdas de MS, crescimento de microrganismos deterioradores, composição química, perfil fermentativo e valor nutricional. Esse problema poderia ser resolvido utilizando estudos de revisão sistemática e meta-análise para auxiliar os proprietários na compra de forragem ensilada como uma opção.

Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da exposição ao ar na composição química e valor nutricional em silagens reensiladas.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Protocolo e registro**

Esse estudo foi realizado conforme as recomendações propostas pelo *Guideline Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). Antes da coleta de dados, foi submetido e aprovado um protocolo na *Open Science Framework* (OSF) com o título: *Effect of air exposure on silage quality: Systematic Review and Meta-analysis* (<https://doi.org/10.17605/OSF.IO/7SFGQ>).

### **4.2. Critérios de elegibilidade**

Para a condução desse trabalho, os artigos selecionados deveriam responder à pergunta PICO (população, intervenção, comparação e desfechos) (Thomas et al., 2019), incluindo: População: silagem; Intervenção: exposição ao ar depois da ensilagem; Comparação: silagens não expostas ao ar (controle); Desfechos: MS (g/kg matéria fresca), PB (g/kg da matéria seca), FDN (g/kg da matéria seca), FDA (g/kg da matéria seca), LIG (g/kg da matéria seca), NIDA (g/kg da matéria seca), NIDN (g/kg da matéria seca), EE (g/kg da matéria seca), MM (g/kg da matéria seca), DIVMS (g/kg da matéria seca), CNF (g/kg da matéria seca), CSA (g/kg da matéria seca), pH, ácido láctico, acético, propiônico e butírico (g/kg da matéria seca), etanol (g/kg da matéria seca), NH<sub>3</sub>-N (g/kg de N total), perdas durante a estocagem por gases e efluentes (g/kg da matéria seca), estabilidade aeróbia (horas e temperatura), contagem de fungos, leveduras e bactérias (log<sup>10</sup> cfu/g) e perda de matéria seca total (g/kg da matéria seca); e publicados em português ou inglês até maio de 2022.

### **4.3. Fontes de informação e pesquisa**

A estratégia de busca dos artigos foi realizada sistematicamente através das bases de dados *Cochrane Library*, *Scopus*, *Embase*, *Web of Science*, *LILACS* e *MEDLINE- Pubmed* e

diretamente em periódicos científicos. Os termos procurados incluíram: “silage”, “sorghum”, “ensiling”, “forage”, “*Zea mays*”, “total mixed ration”, “tropical grasses”, “grasses”, “temperate grass”, “sugarcane”, “*Poaceae*”, “*Medicago sativa*”, “*Fabaceae*”, “*Triticum*”, “*Hordeum*”, “*Lolium*”, “*Helianthus*”, “*Panicum*”, “*Pennisetum*”, “*Cynodon*”, “corn”, “aerobic exposure”, “re-ensilage”, “re-ensiled”, “reensiling”, “relocation”, “reallocation”.

#### **4.4. Seleção de estudos e processo de coleta de dados**

A Figura 1 apresenta o fluxograma de busca e seleção dos estudos. A busca dos estudos foi conduzida por um dos pesquisadores e consolidada em um banco de dados após todas as duplicatas terem sido excluídas com o auxílio do gerenciador de artigos EndNote®. O processo de inclusão dos estudos foi realizado em duas fases. A primeira fase, leitura de títulos e resumos, foi utilizado como critério de exclusão para o tipo de população (TP), estudos que não avaliaram ensilagem como método de conservação de forragem; para tipo de intervenção (TI): silagens que não foram expostas ao ar após a ensilagem e reensiladas; tipo de estudo (TE): estudos não primários ou patentes. Na segunda fase, leitura de texto completa, todos os estudos selecionados na fase 1 foram lidos e avaliados quanto ao critério de elegibilidade (PICO). As fases um e dois foram realizadas utilizando o Microsoft Excel. As divergências entre os avaliadores foram resolvidas com o auxílio de um terceiro avaliador. Na segunda fase, foram excluídos estudos que não apresentavam grupo controle, que não se adequavam a pergunta PICO ou que não apresentaram desvio padrão ou erro padrão da média na análise dos resultados.

#### **4.5. Itens de dados**

Os dados avaliados foram: MS, pH, ácido lático, acético, propiônico e butírico, etanol, NH<sub>3</sub>-N, perdas durante a estocagem por gases e efluentes, estabilidade aeróbia, contagem de fungos, leveduras e bactérias e perda de matéria seca total.

#### **4.6. Risco de viés em estudos individuais e qualidade metodológica**

O risco de viés de publicação (Figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7) foi avaliado testando a simetria entre o desvio padrão (SD – parâmetro de precisão) e parâmetro de efeito verdadeiro (MD)

usando gráficos de funil (Higgins et al., 2019) e o método de regressão de Egger entre MD e SD (Egger et al., 1997) através do pacote “meta” do software R Core Team (2019).

#### 4.7. Medidas sumárias e síntese de resultados

Os dados foram analisados através do pacote “meta” do software R Core Team (2019). Em todos os resultados foram avaliados o efeito das covariáveis: tipo de aditivo (químico, microbiano ou sem aditivo); tipo de forragem (milho, sorgo, cana-de-açúcar, trigo ou capim); e tempo de exposição ao ar ( $\leq 12$  horas, entre 13 e 24 horas e  $\geq 36$  horas).

A diferença média bruta (RMD) foi usada como variável dependente no modelo de meta-regressão mista para identificar o efeito da exposição ao ar na qualidade da silagem de acordo com o modelo:

$$\text{Para as variáveis de silagem} - (\theta_i = \beta_0 + \beta_{dXid} + \beta_{tXit} + u_i)$$

Em que  $\theta_i$  se refere ao efeito médio geral verdadeiro,  $\beta_0$  refere-se à média geral,  $\beta_{dXid}$  ao efeito da covariável exposição ao ar para o  $i$ -ésimo estudo,  $\beta_{tXit}$  refere-se à covariável do tipo de aditivo para o  $i$ -ésimo estudo,  $\beta_{aXis}$  refere-se à variável tipo de forragem para o  $i$ -ésimo estudo, e  $u_i \sim N(0; \Gamma^2)$ , em que  $\Gamma^2$  refere-se à quantidade de heterogeneidade residual entre os efeitos verdadeiros.

O teste multiparamétrico de Wald foi utilizado para testar o efeito da covariável nas respostas analisadas. A hipótese nula é que os coeficientes da covariável é zero (Viechtbauer, 2007). O valor de  $R_2$  ajustado foi calculado pela equação (1):

$$\text{Eq. (1): } R_2 (\%) = (\sigma_o^2 - \sigma_2) / \sigma_o^2$$

Em que  $R_2$  refere-se à validação entre os estudos,  $\sigma_o^2$  refere-se à variação entre os estudos sem a covariável no modelo e  $\sigma_2$  refere-se à variação entre os estudos com a covariável no modelo. Quando as covariáveis obtiveram efeito significativo na resposta, foi realizada análise de subgrupo. Quando as covariáveis não foram significativas, foi realizada apenas a meta-análise geral para avaliar o efeito da exposição ao ar sobre a silagem. As análises de subgrupo que não forneceram uma resposta relevante para o estudo (não resultaram em efeito diferente da meta-análise geral ou não reduziram a heterogeneidade) não foram apresentadas.

A meta-análise de subgrupo e geral foi realizada quando dois ou mais estudos avaliaram o efeito da exposição ao ar através da reensilagem. Os pesos atribuídos a cada estudo foram calculados pelo inverso da variância. Como foi utilizado o modelo de efeitos randômicos, além

de considerar a variabilidade das estimativas para cada estudo causada pelo erro, também foi calculado a variância entre as estimativas dos estudos, conhecido como valor tausquared ( $T^2$ ) (Borenstein et al., 2010). Como as variáveis contínuas foram analisadas, os resultados foram expressos como a diferença média bruta (RMD) usando um modelo de efeito randômico com intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ). O modelo de efeito randômico e a estimativa do efeito da intervenção resumida e a diferença nas médias foram calculados através das seguintes equações (2, 3 e 4):

$$\text{Equação (2): } Y_i = \mu + \xi_i + \varepsilon_i$$

Em que  $\xi_i$  é a diferença entre a média geral ( $\mu$ ) e a média verdadeira ( $\theta_i$ ) para o estudo  $i$  ( $\xi_i = \theta_i - \mu$ ) e  $\varepsilon_i$  é a diferença entre a média verdadeira para o estudo  $i$  ( $\theta_i$ ) e a média observada ( $Y_i$ ) para o estudo  $i$  ( $\varepsilon_i = Y_i - \theta_i$ ) (Borenstein et al., 2010).

$$\text{Equação (3): } M = \frac{\sum Y_i W_i}{\sum W_i}$$

Em que  $Y_i$  é o efeito da intervenção estimado no  $i$ -ésimo estudo,  $W_i$  refere-se ao peso dado ao  $i$ -ésimo estudo e o somatório é através de todos os estudos (Deeks et al., 2019).

$$\text{Equação (4): } RMD_i = M_{1i} - M_{2i}$$

Em que  $M_{1i}$  e  $M_{2i}$  representam os valores médios do tratamento e controle, respectivamente. Quando significativos, os valores positivos favorecem o grupo de tratamento e quando os valores são negativos, favorecem o grupo controle (Deeks et al., 2019).

Heterogeneidade ( $I^2$ ) significa que os intervalos de confiança para os resultados de estudos individuais se sobrepuseram pouco, o que geralmente indica a presença de heterogeneidade estatística.  $I^2$  descreve a porcentagem da variabilidade nas estimativas de efeito que se deve à heterogeneidade e não ao erro de amostragem (acaso). A heterogeneidade é calculada através da seguinte equação:

$$\text{Equação (5): } I^2 = \frac{(Q - df)}{(Q)} \times 100\%$$

Em que  $Q$  é a estatística  $\text{Chi}^2$  e  $df$  são os graus de liberdade (Higgins e Thompson 2002, Higgins et al., 2003). A heterogeneidade foi avaliada com base nos seguintes critérios:  $I^2 < 30\%$ ,  $I^2$  entre 31 e 75% e  $I^2 > 75\%$ , que indicam heterogeneidade baixa, moderada e alta, respectivamente (Deeks et al., 2019). Foi utilizada uma taxa de erro inferior a 10%, indicando heterogeneidade significativa. A importância de  $I^2$  depende da magnitude, direção dos efeitos e força da evidência de heterogeneidade (por exemplo, valor  $P$ ) do teste  $\text{Chi}^2$  ou um intervalo de confiança para  $I^2$ .

Quando dois ou mais estudos elegíveis foram selecionados com o mesmo tratamento, foi realizado uma meta-análise. Os resultados foram expressos como diferença mínima bruta

(RMD), com intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e considerado significativo quando  $p < 0,05$ . A heterogeneidade ( $I^2$ ) foi avaliada a partir do critério:  $I^2 < 25\%$ ,  $I^2$  entre 25 e 75% e  $I^2 > 75\%$  como indicativo de heterogeneidade baixa, moderada e alta, respectivamente (Higgins et al., 2003). Também foi utilizado o valor de  $p < 0,10$  indicando heterogeneidade significativa.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Caracterização do estudo

Foram selecionados 287 estudos nas bases de dados pesquisadas. Após a exclusão das duplicatas, os títulos e resumos de 232 artigos foram extraídos (Figura 1). Depois da leitura de títulos e resumos, 14 artigos foram selecionados para leitura completa. O motivo da exclusão foi devido aos demais artigos não apresentarem exposição ao ar após a ensilagem. Após a leitura completa, 11 artigos foram selecionados, sendo o tipo de intervenção (silagens não expostas ao ar após a ensilagem) e o tipo de estudo (estudos não primários) os principais motivos de exclusão nessa etapa. Dos 11 artigos, 4 foram incluídos através da busca manual. Além disso, dos 11 incluídos, 8 foram realizados no Brasil, 2 na China e 1 em Israel (Tabela 1). 40,90% dos artigos selecionados utilizaram o milho como tipo de forragem, 36,36% utilizaram sorgo, 9,09% cana-de-açúcar, 9,09% capim Napier (*Pennisetum purpureum*) e 4,54% utilizaram trigo como tipo de forragem. Dos trabalhos revisados, 81,81% expuseram a silagem ao ar por menos de 12 horas, 81,81% entre 13 e 24 horas e 54,55% por mais de 36 horas. Em 54,54% dos artigos selecionados foi utilizado inoculante microbiano, 45,45% não utilizaram aditivo e 9,10% utilizaram aditivo químico. A meta-regressão dos resultados das características da silagem estão descritos na Tabela 2.

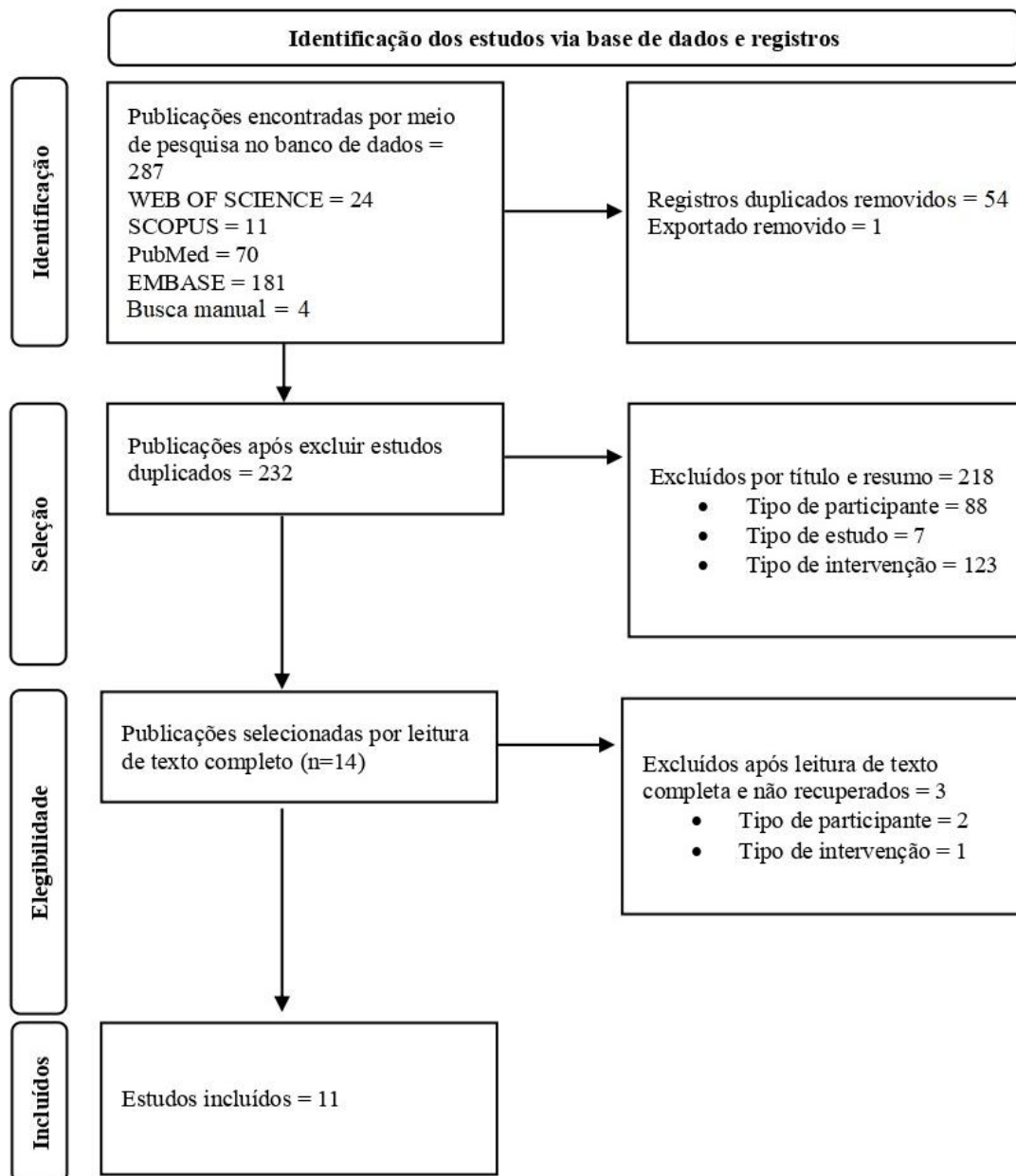


Figura 1 – Fluxograma dos estudos incluídos

Tabela 1 – Características do tempo de exposição ao ar, tipo de forragem, tipo de aditivo e país de realização dos estudos selecionados

Autor/ano	Tempo de exposição ao ar	Tipo de forragem <sup>a</sup>	Tipo de aditivo <sup>b</sup>	País de realização do estudo
Chen e Weinberg., 2014	≤12h; entre 13 e 24h; >36h	M e T	Q e M	Israel
Coelho et al., 2018	>36h	M	M	Brasil
Dos Anjos et al., 2018	≤12h	S	M	Brasil
Faria et al., 2020	≤12h; entre 13 e 24h	C	M <sup>c</sup>	Brasil
Lima et al., 2016	≤12h; entre 13 e 24h; >36h	M	SA	Brasil
Lima et al., 2020	≤12h; entre 13 e 24h; >36h	S	SA	Brasil
Michel et al., 2016	Entre 13 e 24h	S	M	Brasil
Queiroz et al., 2021	≤12h; entre 13 e 24h	M	M	Brasil
Santos et al., 2021	≤12h; entre 13 e 24h	S	SA	Brasil
Tian et al., 2022	≤12h; entre 13 e 24h; >36h	M	SA	China
Yin et al., 2021	≤12h; entre 13 e 24h; >36h	CN	SA	China

a C = silagem de cana-de-açúcar, CN = silagem de capim Napier (*Pennisetum purpureum*), M = silagem de milho, S = silagem de sorgo, T = silagem de trigo;

b M = microbiano, contendo a bactéria ácido láctica homofermentativa *Lactobacillus plantarum* e bactéria ácido láctica heterofermentativa *Propionibacterium acidipropionici* ou apenas *L. plantarum*, Q = químico, contendo ácidos orgânicos, SA = sem aditivos;

c M = microbiano, contendo a bactéria ácido láctica heterofermentativa *Lactobacillus buchneri*.

Tabela 2 – Meta-regressão do efeito do tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição nas diferenças médias brutas (RMD) entre tratamentos de silagens reensiladas e não reensiladas para parâmetros de composição química da silagem

Variável dependente (Y, RMD)	Parâmetros de meta-regressão (P-valor)				R <sup>2</sup> (%) <sup>a</sup>	N <sup>b</sup>	Gráfico de funil (P-valor) <sup>c</sup>
	Intercepto	Tipo de aditivo	Tipo de forragem	Tempo de exposição			
MS	17.8 (p<0.001)	-0.239 (p<0.001)	0.291 (p<0.001)	0.315 (p<0.001)	13,00	42	0,495
PB	3.68 (p=0.084)	-0.203 (p=0.296)	-0.021 (p=0.411)	-0.004 (p=0.625)	0	25	0,378
FDN	17.3 (p=0.126)	-0.034 (p=0.537)	-0.092 (p=0.891)	0.292 (p=0.827)	18,7	37	0,104
FDA	12.5 (p= 0.021)	0.412 (p<0.001)	-0.190 (p=0.845)	-0.254 (p=0.677)	0	22	0.289

LIG	-0.60 (p=0.900)	0.033 (p=0.258)	-0.046 (p=0.645)	-0.045 (p<0.001)	0	12	0,854
NIDA	-0.42 (p=0.428)	-0.482 (p=0.652)	0.631 (p=0.028)	0.663 (p=0.042)	28,34	6	0,976
NIDN	-0.74 (p=0.618)	0.149 (p=0.050)	-0.497 (p=0.907)	-0.503 (p= 0.975)	0	6	0,967
EE	0.87 (p=0.601)	-0.154 (p=0.918)	0.160 (p=0.708)	0.234 (p=0.386)	13,29	22	0,512
MM	-1.93 (p=0.378)	-0.337 (p=0.771)	-0.121 (p=0.035)	-0.044 (p=0.753)	0	15	0,585
DIVMS	11.3 (p=0.509)	-0.023 (p= 0.686)	-0.039 (p=0.496)	-0.100 (p=0.652)	0	24	0,726
CNF	3.96 (p=0.872)	-0.094 (p=0.300)	-0.193 (p=0.984)	0.148 (p=0.479)	0	15	0,807
CSA	-12.1 (p=0.006)	-	0.297 (p=0.046)	0.111 (p=0.229)	13,87	10	0,058

a R<sup>2</sup> ajustado = proporção da variância entre os estudos (heterogeneidade) explicada pelas covariáveis aditivo, forragem e tempo de exposição.

b N = número de comparações entre tratamentos reensilados e não reensilados

c Teste de assimetria de regressão de Egger.

Tabela 3 – Meta-regressão do efeito do tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição nas diferenças médias brutas (RMD) entre tratamentos de silagens reensiladas e não reensiladas para parâmetros de perfil fermentativo da silagem

Variável dependente (Y, RMD)	Parâmetros de meta-regressão (P-valor)				R <sup>2</sup> (%) <sup>a</sup>	N <sup>b</sup>	Gráfico de funil (P-valor) <sup>c</sup>
	Intercepto	Tipo de aditivo	Tipo de forragem	Tempo de exposição			
pH	0.03 (p=0.106)	-0.125 (p<0.001)	0.012 (p<0.001)	-0.125 (p=0.336)	0	39	0,887
NH <sub>3</sub> -N/NT	-5.45 (p<0.001)	0.434 (p<0.001)	0.073 (p<0.001)	-0.772 (p=0.262)	0	39	0,892
Ácido láctico	-0.37 (p=0.851)	0.092 (p=0.877)	0.014 (p<0.001)	-0.280 (p<0.001)	0	49	0,483

Ácido acético	12.58 (p=0.089)	-0.049 (p=0.123)	0.302 (p=0.013)	-0.107 (p=0.797)	17,3	42	0,986
pH	0.03 (p=0.106)	-0.125 (p<0.001)	0.012 (p<0.001)	-0.125 (p=0.336)	0	39	0,887
NH <sub>3</sub> -N/NT	-5.45 (p<0.001)	0.434 (p<0.001)	0.073 (p<0.001)	-0.772 (p=0.262)	0	39	0,892
Ácido láctico	-0.37 (p=0.851)	0.092 (p=0.877)	0.014 (p<0.001)	-0.280 (p<0.001)	0	49	0,483
Ácido acético	12.58 (p=0.089)	-0.049 (p=0.123)	0.302 (p=0.013)	-0.107 (p=0.797)	17,3	42	0,986
Ácido propiônico	1.52 (p=0.147)	0.02 (p=0.180)	0.185 (p<0.001)	0.204 (p=0.086)	30,34	34	0,924
Ácido butírico	-0.20 (p=0.902)	-1.635 (p<0.001)	0.039 (p<0.01)	-0.058 (p<0.001)	0	26	0,095
Perda por gás	34.3 (p<0.001)	-0.490 (p=0.022)	-0.212 (p=0.029)	-0.432 (p<0.001)	0	13	0,004
Perda por efluentes	141 (p<0.001)	-0.046 (p<0.001)	0.394 (p<0.001)	-0.416 (p=0.016)	0,72	16	0,071
Perda MS total	30.5 (p=0.348)	-0.244 (p=0.913)	0.429 (p=0.051)	0.055 (p=0.949)	13,64	21	0,395
Bactérias	0.62 (p=0.630)	-0.103 (p=0.988)	0.010 (p<0.001)	-0.109 (p<0.001)	0	27	0,102
Fungos	0.60 (p=0.530)	0.606 (p<0.001)	0.072 (p=0.176)	0.015 (p=0.443)	54,15	10	0,169
Leveduras	4.81 (p<0.001)	-0.143 (p=0.640)	0.172 (p=0.115)	-0.247 (p=0.794)	59,09	12	0,088
Bactérias na perda de estabilidade	-0.01 (p=0.985)	0.317 (p=0.352)	-0.203 (p=0.747)	-0.283 (p=0.667)	0	6	0,393
Leveduras na perda de estabilidade	-1.08 (p=0.343)	-0.000 (p=0.785)	0.134 (p=0.078)	0.113 (p=0.155)	0	6	0,323

a R<sup>2</sup> ajustado = proporção da variância entre os estudos (heterogeneidade) explicada pelas covariáveis aditivo, forragem e tempo de exposição.

b N = número de comparações entre tratamentos reensilados e não reensilados

c Teste de assimetria de regressão de Egger.

## 5.2. Risco de viés de publicação

A avaliação do risco de viés demonstrou ausência de viés para as variáveis MS, PB, FDN, FDA, LDA, EE, MM, DIVMS, EA, CNF, contagem de fungos, leveduras e bactérias,

pH,  $\text{NH}_3\text{-NT}$ , perda por efluentes, perda de matéria seca total, concentração de ácido láctico, acético, butírico e propiônico ( $p > 0,05$ ). As variáveis CSA e perda por gases apresentaram risco de viés de publicação ( $p < 0,05$ ) (Figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7).

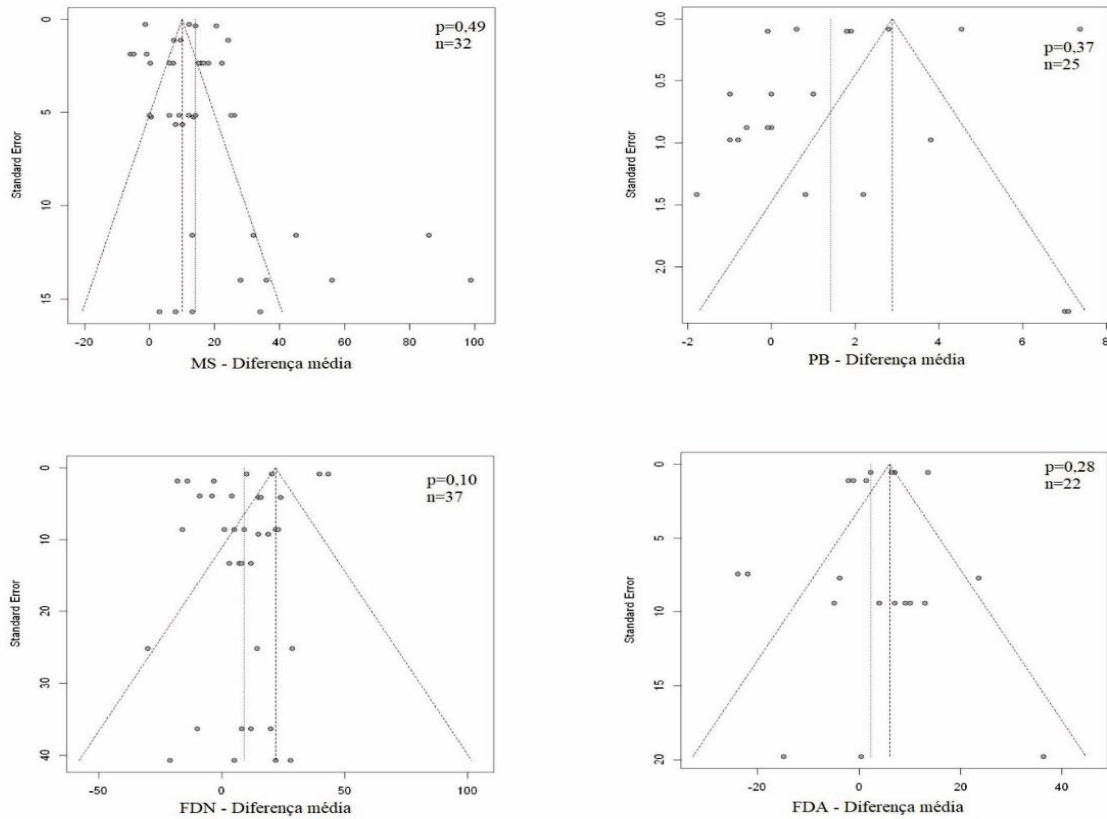


Figura 2 – Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para MS (matéria seca), PB (proteína bruta), FDN (fibra insolúvel em detergente neutro) e FDA (fibra insolúvel em detergente ácido). O valor de  $p$  refere-se ao teste de assimetria do gráfico de funil pelo método de regressão de Egger entre a diferença média e o erro padrão. A assimetria do gráfico de funil é indicativa de viés de publicação

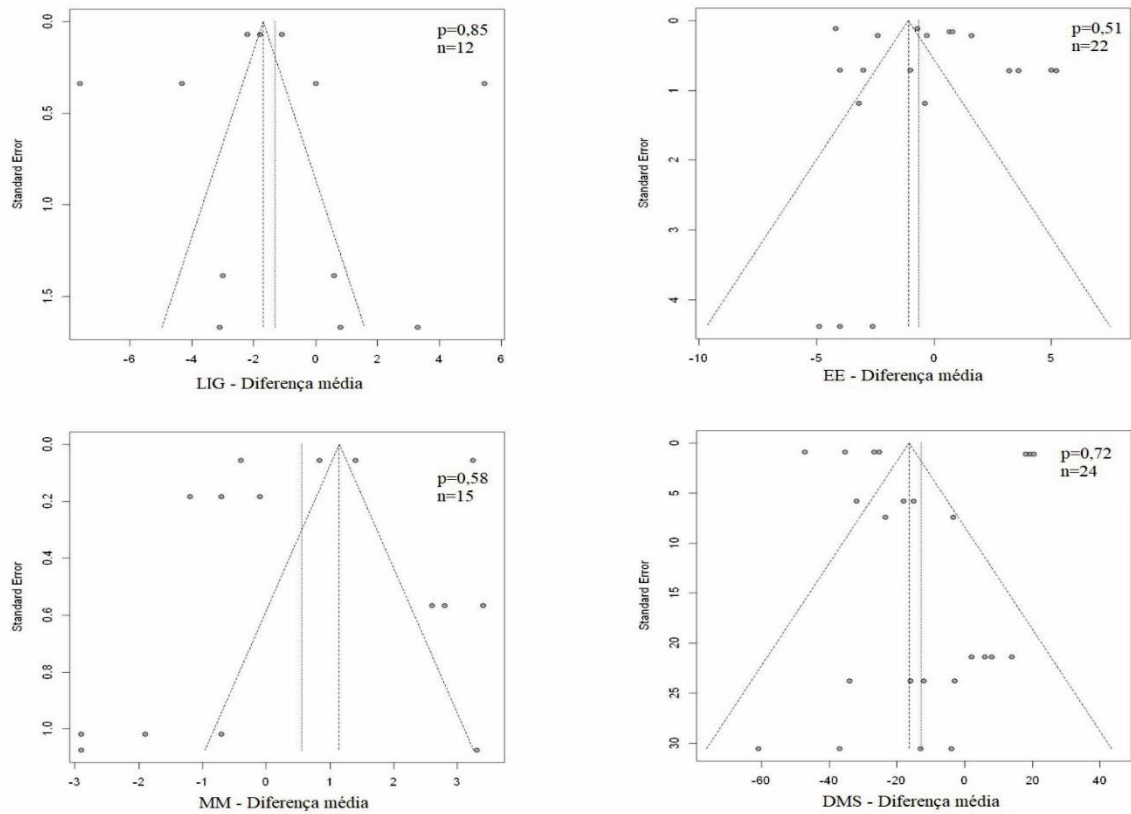


Figura 3 - Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para LIG (lignina), EE (extrato etéreo), MM (matéria mineral) e DMS (digestibilidade da matéria seca). O valor de p refere-se ao teste de assimetria do gráfico de funil pelo método de regressão de Egger entre a diferença média e o erro padrão. A assimetria do gráfico de funil é indicativa de viés de publicação

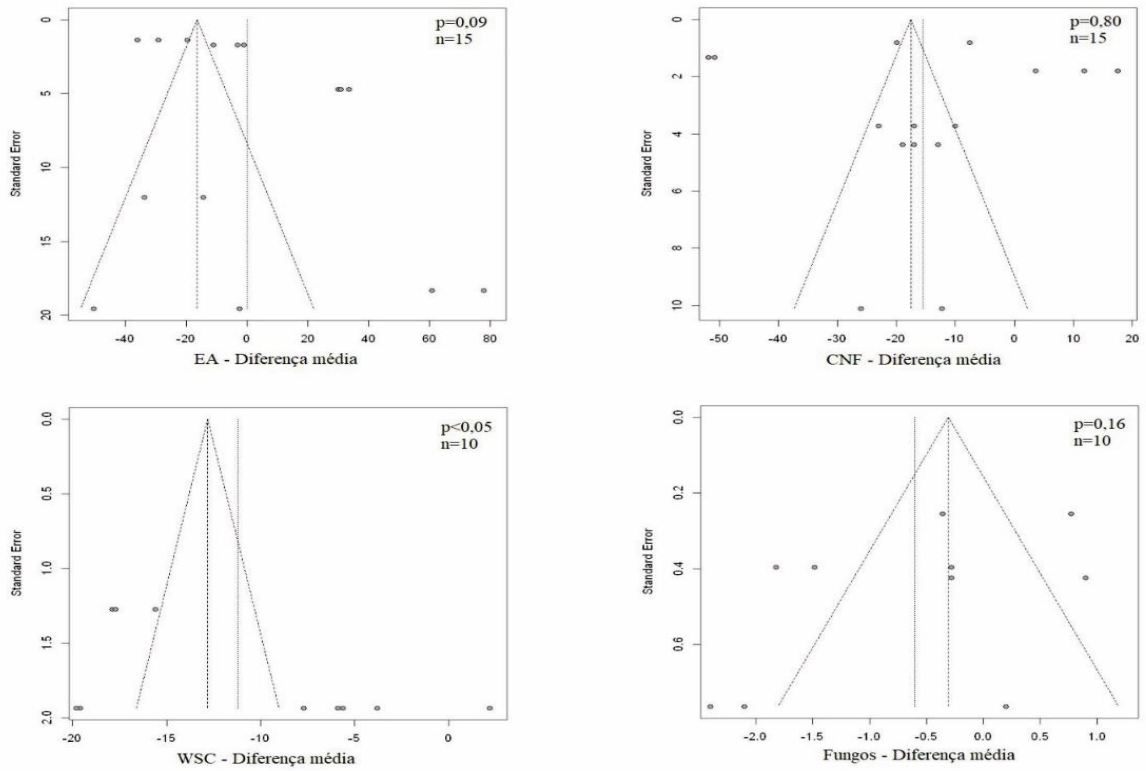


Figura 4 - Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para EA (estabilidade aeróbia), CNF (carboidratos não-fibrosos), CSA (carboidratos solúveis em água) e contagem de fungos. O valor de p refere-se ao teste de assimetria do gráfico de funil pelo método de regressão de Egger entre a diferença média e o erro padrão. A assimetria do gráfico de funil é indicativa de viés de publicação

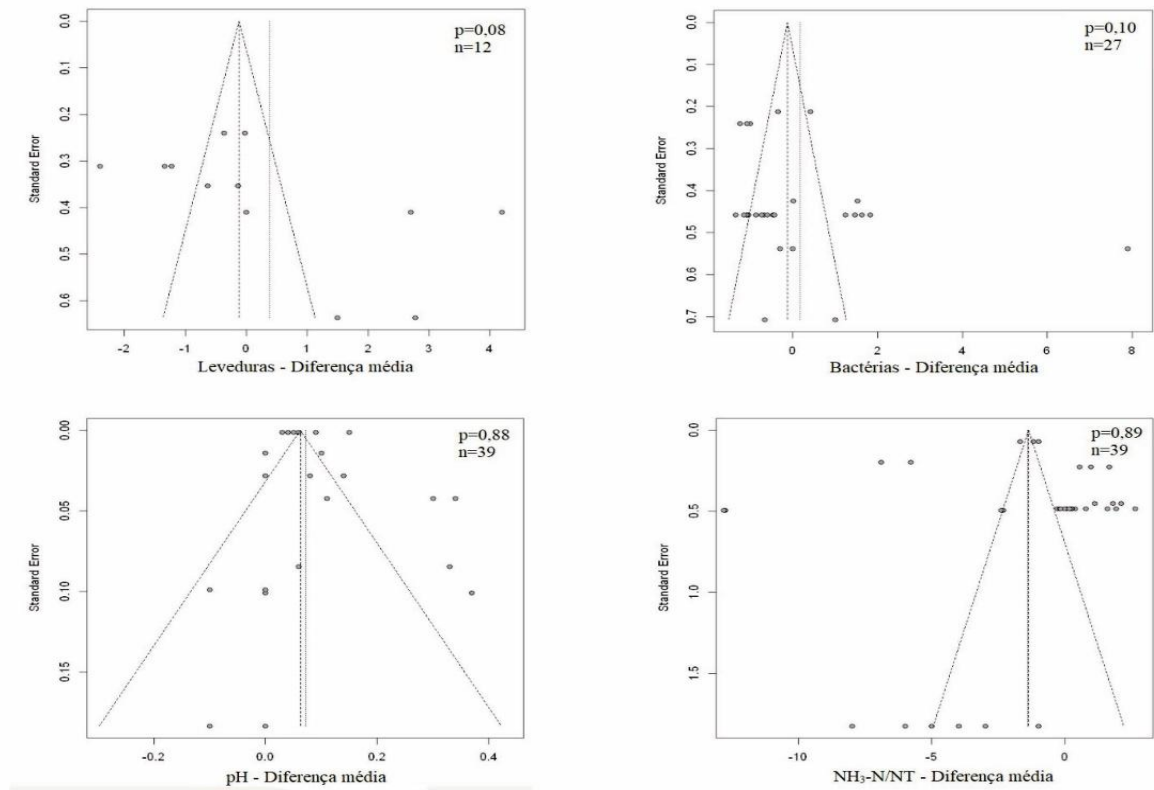


Figura 5 - Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para contagem de leveduras e de bactérias, pH e NH<sub>3</sub>-N/NT (nitrogênio amoniacal). O valor de p refere-se ao teste de assimetria do gráfico de funil pelo método de regressão de Egger entre a diferença média e o erro padrão. A assimetria do gráfico de funil é indicativa de viés de publicação

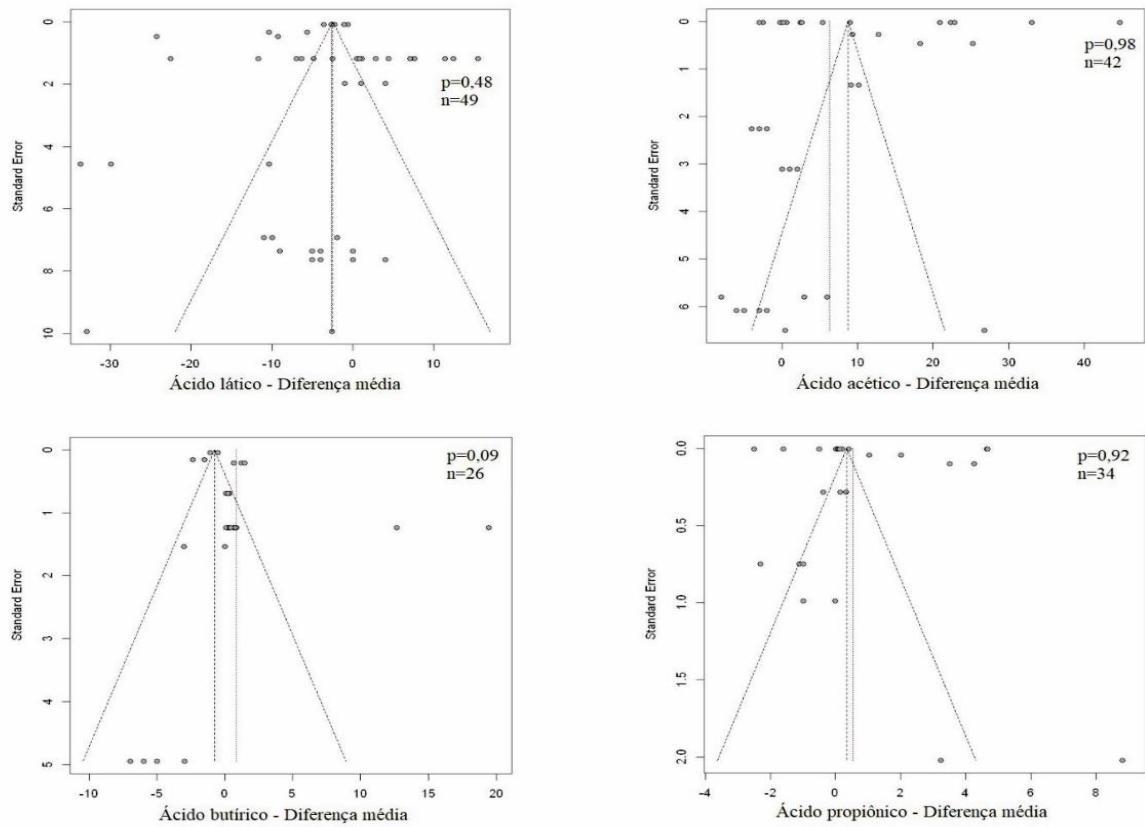


Figura 6 - Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para teor de ácido láctico, ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico. O valor de p refere-se ao teste de assimetria do gráfico de funil pelo método de regressão de Egger entre a diferença média e o erro padrão. A assimetria do gráfico de funil é indicativa de viés de publicação

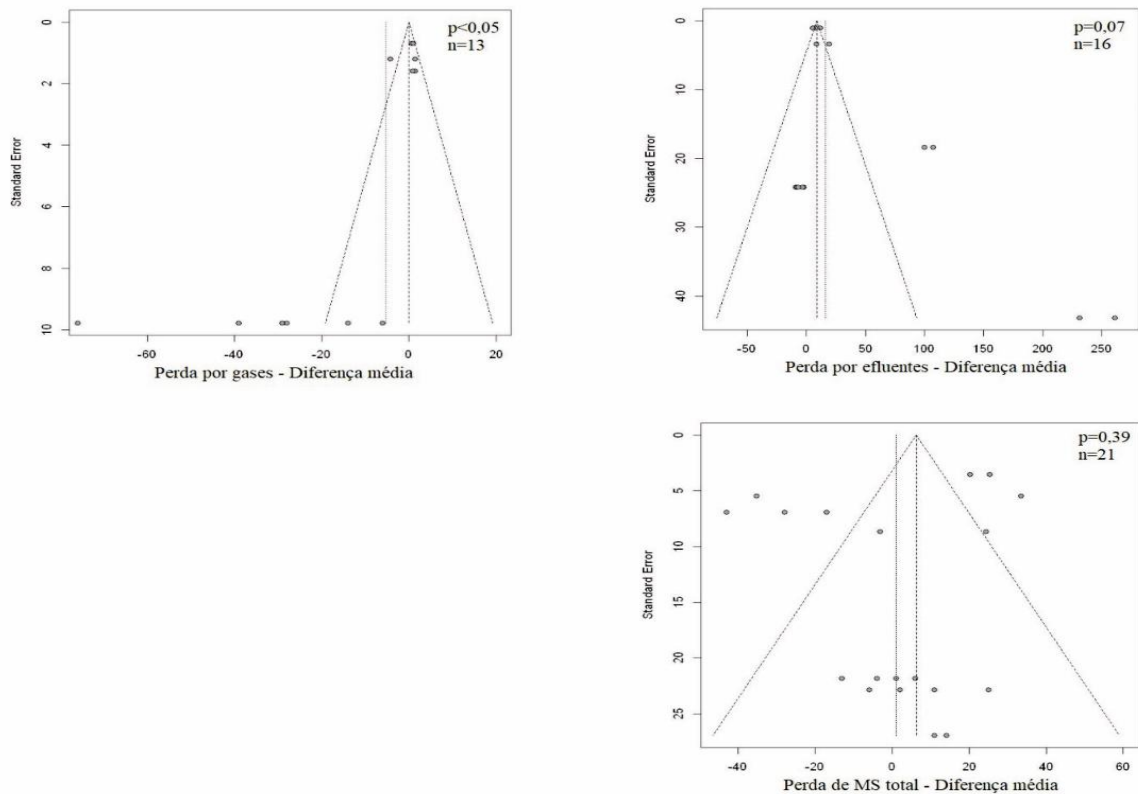


Figura 7 - Gráfico de funil para avaliação do risco de viés de publicação para perda por gases, por efluentes e de MS total. O valor de p refere-se ao teste de assimetria do gráfico de funil pelo método de regressão de Egger entre a diferença média e o erro padrão. A assimetria do gráfico de funil é indicativa de viés de publicação

### 5.3. Composição química, perfil microbiológico e fermentativo e estabilidade aeróbica

A MS das silagens avaliadas aumentou após exposição ao ar ( $p < 0,05$ ) em 13,94 g/kg MS (Tabela 3). Esse aumento ocorreu independente do uso de inoculante microbiano, tipo de forragem ou tempo de exposição. A diferença média na MS é maior, quando maior o tempo de exposição. Silagens expostas por 12 h, de 13 a 24 h e acima de 36 h apresentaram diferença média em relação ao grupo controle de 8,4, 9,7, 22,2 g/kg de MN, respectivamente. A exposição ao ar das silagens aumentou ( $p < 0,05$ ) as concentrações de PB (1,41 g/kg MS) e FDN (9,04 g/kg MS). Além disso, o teor de FDA aumentou ( $p < 0,05$ ) em 11,62 g/kg MS pela utilização de inoculantes microbianos (Tabela 3).

As concentrações de NIDA não aumentaram ( $p > 0,05$ ) na meta-análise geral. Entretanto, aumentou ( $p = 0,008$ ) em 0,66 g/kg MS quando forragem de sorgo foi utilizada. A DIVMS diminuiu ( $p < 0,05$ ) 12,8 g/kg de MS, bem como o teor de CNF ( $p < 0,05$ ) em 15,6 g/kg de MS. A análise de subgrupo tipo de forragem para MM demonstrou que apenas as silagens de sorgo aumentaram ( $p = 0,006$ ) a concentração de MM em 1,51 g/kg MS. O teor de CSA diminuiu ( $p < 0,05$ ) nas silagens de sorgo (8,60 g/kg MS) e cana-de-açúcar (17,07 g/kg MS).

O pH foi maior ( $p < 0,05$ ) nas silagens reensiladas (0,07) (Tabela 4). Entretanto, a análise de subgrupo demonstrou que apenas silagens sem aditivo aumentam ( $p < 0,001$ ) o pH quando reensiladas. O teor de  $\text{NH}_3\text{-N}$  diminuiu ( $p < 0,001$ ) em 1,42 g/kg de MS nas silagens reensiladas. A concentração de ácido láctico diminuiu ( $p < 0,05$ ) em 2,64 g/kg MS nas silagens reensiladas. A reensilagem aumentou ( $p < 0,05$ ) a concentração de ácido acético em 6,32 g/kg MS quando comparada ao grupo controle. Da mesma forma, a concentração de ácido butírico também aumentou ( $p < 0,001$ ) em 0,81 g/kg MS com a reensilagem. Porém, o uso de inoculante microbiano reduziu ( $p < 0,05$ ) em 1,59 g/kg MS a concentração de ácido butírico e aumentou ( $p = 0,006$ ) em 1,61 g/kg MS em silagens não inoculadas. Para subgrupo tipo de forragem houve redução ( $p < 0,05$ ) para sorgo (0,39 g/kg MS), milho (0,83 g/kg MS) e trigo (5,25 g/kg MS). As silagens expostas ao ar por mais de 36 horas aumentaram ( $p < 0,001$ ) em 2,9 g/kg de MS a concentração de ácido butírico (Tabela 4). A contagem de fungos no momento da abertura em silagens sem inoculantes diminuiu ( $p < 0,05$ ) em 0,61  $\log_{10}$  ufc/g quando comparada às silagens não reensiladas (Tabela 5).

A perda por gás foi menor ( $p < 0,05$ ) nas silagens reensiladas (5,25% MS), inclusive nas silagens sem o uso de aditivo (13,00% MS) e nas silagens de sorgo (12,08% MS) (Tabela 4). A perda por efluentes aumentou ( $p < 0,05$ ) em 16,33 g/kg MF após a exposição ao ar quando comparada ao grupo controle. A perda de MS total aumentou ( $p < 0,05$ ) em silagens de milho, 21,2% MS, e reduziu ( $p < 0,05$ ) em silagens de cana-de-açúcar, 29,3% MS.

Tabela 4 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre a composição química (g/kg de MS)

Variável <sup>a</sup>	N <sup>b</sup>	RMD (CI 95%) <sup>c</sup>		Heterogeneidade <sup>d</sup>	
		Efeito aleatório	p-Valor		
Composição química (g/kg de MS)					
MS	42 (330/330)	13.9445 [10.6160; 17.2731]	<0.001	98,7	<0.001
Aditivo - Químico	4 (12/12)	14.5000 [-0.8869; 29.8869]	0,06	0	0,52
Microbiano	12 (45/45)	16.8017 [12.9734; 20.6301]	< 0.001	92,5	< 0.001
Sem aditivo	26 (108/108)	10.3184 [5.1913; 15.4455]	< 0.001	99,1	< 0.001
Forrageira - Sorgo	14 (56/56)	6.8147 [1.5111; 12.1184]	0,01	98,9	<0.001
Milho	21 (82/82)	15.5959 [12.3900; 18.8019]	< 0.001	95,6	< 0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	9.3333 [2.9352; 15.7315]	0,004	0,0	0,96
Trigo	4 (12/12)	44.0000 [13.6891; 74.3109]	0,004	85,9	< 0.001
Tempo de exposição ao ar - <= 12 h	17 (69/69)	8.3552 [4.0534; 12.6570]	0,001	83,6	< 0.001
Entre 13 e 24 h	13 (54/54)	9.7280 [3.9969; 15.4591]	0,009	96,1	< 0.001
> 36 h	12 (42/42)	22.2922 [18.3542; 26.2301]	< 0.001	99	< 0.001
PB	25 (228/228)	1.4110 [0.3217; 2.5003]	0,0111	99,6	<0.001
FDN	37 (300/300)	9.0370 [1.1943; 16.8796]	0,0239	98,6	<0.001
FDA	22 (198/198)	2.2699 [-1.0484; 5.5883]	0,18	94,9	<0.001
Aditivo - Microbiano	4 (21/21)	11.6242 [5.5837; 17.6646]	0,002	96	<0.001
Sem aditivo	18 (78/78)	-0.1330 [-3.1320; 2.8659]	0,93	85,9	<0.001
LIG	12 (120/120)	-1.3195 [-2.2672; -0.3717]	0,0064	98,9	< 0.001
NIDA	6 (60/60)	0.2965 [-0.3413; 0.9343]	0,3622	99,1	<0.001
Forrageira - Sorgo	4 (20/20)	0.6665 [0.1752; 1.1577]	0,008	95,5	<0.001
Milho	2 (10/10)	-0.2700 [-0.9560; 0.4160]	0,44	98,7	<0.001
Tempo de exposição ao ar - <= 12 h	2 (10/10)	0.2500 [-1.0240; 1.5240]	0,7	81,4	0,02
Entre 13 e 24 h	2 (10/10)	0.9000 [0.3120; 1.4880]	0,003	98,2	<0.001

> 36 h	2 (10/10)	-0.2700 [-0.9560; 0.4160]	0,44	98,7	<0.001
NIDN	6 (60/60)	0.4850 [-0.6857; 1.6556]	0,4168	99,7	<0.001
EE	22 (198/198)	-0.6444 [-1.7261; 0.4372]	0,2429	98,6	<0.001
MM	15 (150/150)	0.5595 [-0.2798; 1.3988]	0,1914	99,5	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	7 (35/35)	1.5127 [0.4326; 2.5929]	0,006	99	<0.001
Milho	5 (25/25)	0.4218 [-1.1992; 2.0428]	0,61	99,7	<0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	-1.8333 [-3.0798; -0.5869]	0,004	14,5	0,31
DIVMS	24 (192/192)	-12.7812 [-25.4165; -0.1460]	0,0474	99,5	<0.001
CNF	15 (150/150)	-15.5684 [-27.1547; -3.9821]	0,0084	99,4	<0.001
CSA	10 (72/72)	-11.2109 [-15.7705; -6.6513]	< 0.001	94,9	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	7 (21/21)	-8.6000 [-14.6729; -2.5271]	0,006	94,4	<0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	-17.0667 [-18.5084; -15.6249]	<0.001	0,2	0,37

a exposição ao ar após a ensilagem.

b número de comparações entre a silagem tratada e controle.

c diferença média bruta entre silagem tratada e controle.

d  $I^2$  = proporção da variação total das estimativas do tamanho do efeito devido à heterogeneidade, P-valor para o teste  $\chi^2$  (Q) de heterogeneidade.

Tabela 5 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre o perfil fermentativo (g/kg de MS) e estabilidade aeróbica (h)

Variável <sup>a</sup>	N <sup>b</sup>	RMD (CI 95%) <sup>c</sup>		Heterogeneidade <sup>d</sup>	
		Efeito aleatório	p-Valor	$I^2$ (%)	p-Valor
Perfil fermentativo (g/kg de MS) e estabilidade aeróbia (h)					
pH	39 (300/300)	0.0719 [0.0556; 0.0881]	<0.001	99,4	<0.001
Aditivo - Químico	4 (12/12)	-0.0250 [-0.1220; 0.0720]	0,61	0	0,86
Microbiano	12 (45/45)	0.0370 [-0.0094; 0.0834]	0,12	93	<0.001
Sem aditivo	23 (66/66)	0.0880 [0.0685; 0.1075]	<0.001	100	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	14 (56/56)	0.1332 [0.1054; 0.1610]	<0.001	81	<0.001
Milho	18 (67/67))	0.0470 [0.0254; 0.0686]	<0.001	100	<0.001

Cana-de-açúcar	3 (15/15)	0.0000 [-0.0320; 0.0320]	1	0	1
Trigo	4 (12/12)	-0.0750 [-0.2552; 0.1052]	0,41	0	0,97
NH <sub>3</sub> -N/NT (g/kg do N total)	39 (366/366)	-1.4156 [-2.1399; -0.6913]	<0.001	98,8	<0.001
Aditivo - Microbiano	4 (21/21)	-8.1514 [-12.9568; -3.3459]	0,009	99,4	<0.001
Sem aditivo	35 (142/142)	-0.4163 [-0.9409; 0.1084]	0,12	97,4	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	14 (56/56)	-4.0079 [-6.4241; -1.5918]	0,001	99,3	<0.001
Milho	13 (58/58)	-1.3260 [-2.0267; -0.6254]	0,002	98,3	<0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	1.6667 [1.0860; 2.2474]	<0.001	22,2	0,28
Capim	9 (54/54)	0.6022 [0.0159; 1.1885]	0,04	71	0,006
Ácido láctico	49 (420/420)	-2.6439 [-3.5360; -1.7518]	<0.001	99,1	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	14 (56/56)	-6.5576 [-7.8725; -5.2426]	<0.001	100	<0.001
Milho	21 (67/67)	-0.2428 [-4.1834; 3.6978]	0,9	98	<0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	1.3333 [-1.5144; 4.1811]	0,36	38	0,2
Trigo	4 (12/12)	-1.2500 [-8.7339; 6.2339]	0,74	0	0,83
Tempo de exposição ao ar - <= 12 h	20 (88/88)	2.4407 [1.0589; 3.8225]	0,005	97,5	<0.001
Entre 13 e 24 h	14 (61/61)	-7.8906 [-13.6912; -2.0900]	0,008	99,5	<0.001
> 36 h	15 (61/61)	-5.1392 [-6.2643; -4.0140]	<0.001	99,1	<0.001
Ácido acético	42 (378/378)	6.3242 [2.0231; 10.6254]	0,004	100	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	7 (35/35)	10.3978 [8.2404; 12.5552]	<0.001	93,6	<0.001
Milho	18 (67/67)	2.9977 [2.0526; 3.9428]	<0.001	99,9	<0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	0.3333 [-8.0077; 8.6744]	0,94	38,1	0,2
Trigo	4 (12/12)	1.0000 [-2.0490; 4.0490]	0,52	0	0,98
Capim	10 (60/60)	15.8700 [6.3005; 25.4395]	0,001	100	<0.001
Ácido propiônico	34 (330/330)	0.5389 [-0.0657; 1.1436]	0,0807	100	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	7 (35/35)	2.2642 [0.7950; 3.7333]	0,003	98,8	<0.001
Milho	14 (55/5)	-0.2053 [-0.7544; 0.3438]	0,46	100	<0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	-1.4667 [-2.3148; -0.6185]	0,007	0	0,39
Capim	10 (60/60)	1.0660 [-0.1080; 2.2400]	0,08	100	<0.001
Ácido butírico	26 (264/264)	0.8127 [0.2653; 1.3601]	0,0036	97,1	<0.001

Aditivo - Microbiano	7 (27/27)	-1.5888 [-3.1266; -0.0509]	<0.001	95,5	<0.001
Sem aditivo	19 (105/105)	1.6052 [0.6867; 2.5237]	0,006	97,5	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	7 (35/35)	-0.3872 [-1.7805; 1.0061]	0,59	98,4	<0.001
Milho	2 (10/10)	-0.8300 [-1.3984; -0.2616]	0,004	98,9	<0.001
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	0.2000 [-0.5841; 0.9841]	0,62	0	0,98
Trigo	4 (12/12)	-5.2500 [-10.1007; -0.3993]	0,03	0	0,95
Capim	10 (60/60)	3.6080 [-0.5816; 7.7976]	0,09	96,7	<0.001
Tempo de exposição ao ar - <= 12 h	11 (55/55)	0.3387 [-0.3750; 1.0524]	0,35	33,5	0,13
Entre 13 e 24 h	8 (40/40)	-0.1945 [-1.5275; 1.1386]	0,77	97,5	<0.001
> 36 h	7 (37/37)	2.9258 [1.9500; 3.9015]	<0.001	98,8	<0.001
Perda por gás	13 (102/102)	-5.2470 [-8.6683; -1.8258]	0,0026	89,6	<0.001
Aditivo - Microbiano	3 (15/15)	-0.7688 [-4.1525; 2.6150]	0,66	85,9	0,008
Sem aditivo	10 (36/36)	-13.0039 [-19.1497; -6.8581]	<0.001	91,1	<0.001
FORAGE - Sorgo	11 (41/41)	-12.0767 [-17.9548; -6.1986]	<0.001	90,8	<0.001
Milho	2 (10/10)	0.7650 [-0.1758; 1.7058]	0,11	0	0,75
Perda por efluentes	16 (132/132)	16.3288 [9.8038; 22.8538]	<0.001	89,7	<0.001
Aditivo - Microbiano	3 (15/15)	117.4007 [7.8440; 226.9573]	0,04	96,7	<0.001
Sem aditivo	13 (51/51)	12.0870 [6.3215; 17.8524]	<0.001	85,5	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	11 (41/41)	20.5778 [1.4404; 39.7152]	0,04	85,3	<0.001
Milho	2 (10/10)	103.4000 [77.9205; 128.8795]	<0.001	0	0,78
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	8.3667 [4.7239; 12.0095]	<0.001	89,4	<0.001
Tempo de exposição ao ar - <= 12 h	6 (26/26)	15.9178 [4.9855; 26.8502]	0,004	92,8	<0.001
Entre 13 e 24 h	4 (18/18)	10.3762 [2.5054; 18.2470]	0,01	81	0,001
> 36 h	6 (22/22)	32.1429 [-16.2523; 80.5382]	0,19	86,9	<0.001
Perda total de matéria seca	21 (162/162)	1.0094 [-12.3364; 14.3552]	0,88	91	<0.001
FORAGEIRA - Sorgo	4 (20/20)	4.75 [-30.93; 40.43]	0,79	97	<0.001
Milho	10 (34/34)	21.22 [16.51; 25.93]	<0.001	0	0,62
Cana-de-açúcar	3 (15/15)	-29.3333 [-44.10; -14.56]	<0.001	72	0,03
Estabilidade aeróbia	15 (75/75)	0.0456 [-10.3155; 10.4067]	0.9931	98.3	<0.001

---

a exposição ao ar após a ensilagem.

b número de comparações entre a silagem tratada e controle.

c diferença média bruta entre silagem tratada e controle.

d  $I^2$  = proporção da variação total das estimativas do tamanho do efeito devido à heterogeneidade, P-valor para o teste  $\chi^2$  (Q) de heterogeneidade.

Tabela 6 – Meta-análise geral para efeito da reensilagem e análise de subgrupo para tipo de aditivo, tipo de forragem e tempo de exposição ao ar sobre a contagem microbiana total ( $\log_{10}$  ufc/g) na abertura da silagem e na perda de estabilidade

Variável <sup>a</sup>	N <sup>b</sup>	RMD (CI 95%) <sup>c</sup>		Heterogeneidade <sup>d</sup>	
		Efeito aleatório	p- Valor	$I^2$ (%)	p-Valor
Contagem microbiana total ( $\log_{10}$ ufc/g)					
Contagem microbiana na abertura da silagem					
Bactéria	27 (270/270)	0.1813 [-0.3828; 0.7453]	0,5288	93, 4	<0.001
Fungos	10 (50/50)	-0.6055 [-1.2842; 0.0732]	0,0804	85, 7	<0.001
Aditivo - Microbiano	2 (10/10)	0.8044 [0.3766; 1.2322]	0,002	0	0,79
Sem aditivo	8 (40/40)	-0.9886 [-1.5861; - 0.3911]	0,001	71, 7	0,008
Leveduras	12 (120/120)	0.3826 [-0.5878; 1.3530]	0,4397	95, 9	< 0.001
Contagem microbiana na perda de estabilidade					
Bactéria	6 (60/60)	0.5333 [-0.3206; 1.3871]	0,2209	83, 6	<0.001
Fungos	4 (40/40)	0.8144 [-1.7007; 3.3296]	0,5257	89, 7	<0.001
Leveduras	6 (60/60)	0.0727 [-1.6421; 1.7875]	0,9338	88, 2	<0.001

a exposição ao ar após a ensilagem.

b número de comparações entre a silagem tratada e controle.

c diferença média bruta entre silagem tratada e controle.

d  $I^2$  = proporção da variação total das estimativas do tamanho do efeito devido à heterogeneidade, P-valor para o teste  $\chi^2$  (Q) de heterogeneidade.

## **6. DISCUSSÃO**

### **6.1. Risco de viés de publicação e estudos com alta heterogeneidade**

O resultado da regressão de Egger prevê a discordância dos resultados entre os estudos e destaca possíveis vieses de publicação (Egger et al., 1997). Para as variáveis CSA e perda por gases, foi observado viés de publicação significativo, o que pode ser explicado pelo pequeno número de comparações nessas variáveis. Os dados encontrados na presente meta-análise precisam ser avaliados com cuidado, devido ao número limitado de comparações de silagens expostas ao ar. Além disso, todas as variáveis estudadas apresentaram alta heterogeneidade.

Oliveira et al. (2017) e Menezes et al. (2022) também observaram alta heterogeneidade na maioria das variáveis relacionadas a composição química, perfil fermentativo e microbiológico em silagens. Isso pode ocorrer porque as características de manejo das silagens reensiladas podem não ser bem descritas nos trabalhos, dificultando sua análise em estudos de meta-regressão e em subgrupos.

### **6.2. Composição química**

A exposição da silagem ao ar pode fazer com que os componentes orgânicos voláteis e a umidade do material ensilado evaporem, como consequência, o conteúdo de MS do alimento pode aumentar (Brüning et al., 2017). Além disso, durante a reensilagem ocorre nova compactação do alimento na propriedade de destino, o que pode aumentar o teor de MS devido à perda por efluentes em decorrência da maior eliminação de água das células vegetais (dos Anjos et al., 2018). Essas características estão de acordo com os resultados encontrados para o conteúdo de MS no presente estudo.

Além disso, a presença do oxigênio propicia um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos aeróbicos deterioradores, como leveduras e fungos filamentosos, que para se desenvolver consomem substratos provenientes da silagem, principalmente carboidratos solúveis. Essa condição pode diminuir a digestibilidade do alimento ensilado e explica a redução da DIVMS (Santos et al., 2021). A menor DIVMS também ocorre devido ao aumento da fração fibrosa na silagem reensilada quando comparada às silagens não expostas ao ar, visto que há um aumento nos componentes de parede celular. Além disso, a maior perda por efluentes ocasionada pela segunda compactação pode diminuir e interferir diretamente na DIVMS, uma vez que nesse processo compostos orgânicos importantes podem ser perdidos (Tabacco et al., 2011). Outra variável nutricional relacionada a esses achados é o aumento no conteúdo de PB,

que pode ser explicado pela diminuição dos açúcares totais, consumidos pelos microrganismos aeróbicos, aumentando proporcionalmente o teor de compostos nitrogenados no alimento (Coelho et al., 2018).

### **6.3. Perfil fermentativo e microbiológico e estabilidade aeróbica**

O aumento do pH, da contagem de microrganismos aeróbios, do conteúdo de  $\text{NH}_3\text{-N/NT}$  e da temperatura da silagem são indicativos de deterioração aeróbica (Santos et al., 2021). A amônia em excesso na silagem pode interferir no consumo do alimento pelos animais e ser menos eficiente para a microbiota ruminal (Tomich et al., 2003). Porém, o conteúdo de  $\text{NH}_3\text{-N/NT}$  das silagens reensiladas foi menor quando comparado às que não foram expostas ao ar, provavelmente devido a maior perda de efluentes ocasionada pela segunda compactação na reensilagem (Michel et al., 2016).

O aumento do pH da massa ensilada ocorre, principalmente, pela produção de água,  $\text{CO}_2$  e ácidos orgânicos pelos microrganismos aeróbios (Tabacco et al., 2011; Borreani et al., 2017). Essa condição possibilita o desenvolvimento de agentes indesejáveis durante o processo fermentativo e de conservação da silagem, como os fungos, microrganismos deterioradores importantes e produtores de micotoxinas, com impacto direto na saúde, desempenho animal (Ogunade et al., 2018) e na qualidade nutricional da silagem, bem como as leveduras. Esses grupos consomem ácido lático, o que pode explicar a redução em seu conteúdo no presente estudo. Além disso, as condições promovidas pela reensilagem podem predispor ao desenvolvimento de enterobactérias, que fermentam glicose a ácidos orgânicos, e que podem desaminar aminoácidos em compostos nitrogenados, diminuindo a qualidade do material ensilado (Santos et al., 2021).

Outro grupo que ainda pode se desenvolver durante esse processo são as bactérias do gênero *Clostridium spp.*, que contaminam a forragem ainda no solo na forma de esporos, e são potenciais produtoras de ácido butírico a partir de glicose e lactato (Pahlow et al., 2003; Kung Jr. et al., 2018), o que poderia explicar o aumento desse ácido no presente estudo. Além disso, a exposição da silagem ao ar também pode aumentar o conteúdo de ácido acético, principalmente devido ao consumo de ácido lático e posterior produção de acetato por enterobactérias (Santos et al., 2021). O aumento na concentração de ácido acético e propiônico deveria reduzir a contagem de microrganismos no momento de abertura do silo, bem como aumentar a estabilidade aeróbica das silagens reensiladas quando comparadas ao grupo controle, dado que esses ácidos orgânicos apresentam potencial inibitório de fungos e leveduras

(Bernardes et al., 2018). Contudo, não houve diferença ( $p>0,05$ ) na estabilidade aeróbica e apenas a contagem de fungos no momento de abertura diminuiu ( $p<0,05$ ).

A qualidade nutricional da silagem pode reduzir em até 16% no momento de abertura antes mesmo que a presença de fungos seja detectável, fator caracterizado pelo aumento da temperatura no silo (Borreani et al., 2018). Esse fenômeno pode ser explicado pela depleção dos produtos finais da fermentação e pela oxidação dos carboidratos solúveis, que são disponibilizados através da degradação da celulose e do amido (Tabacco et al., 2011). Por isso, adotar estratégias que minimizem as perdas durante o processo de reensilagem e reduzam o impacto sobre o desempenho e saúde animal são fundamentais para que essa prática seja bem-sucedida, como investir em densidade adequada dentro dos silos, tendo em vista que essa prática diminui a porosidade da silagem e a deterioração (Bernardes et al., 2018), bem como agilizar o processo para evitar maiores perdas nutricionais e fermentativas.

A maioria das covariáveis explicou menos de 50% da heterogeneidade ( $R^2$  ajustado) para quase todas as variáveis relacionadas à composição química, perfil microbiológico e fermentativo das silagens avaliadas (Tabela 2), sugerindo que fatores desconhecidos e não descritos na meta-análise possam ter afetado a resposta da exposição ao ar em silagens anteriormente ensiladas. Contudo, para a contagem de fungos e leveduras, as covariáveis explicaram 54,15 e 59,09% das variabilidades, respectivamente, sugerindo que o tipo de aditivo, o tipo de forragem e tempo de exposição ao ar explicam a variação nas duas respostas.

## **7. CONCLUSÃO**

A exposição ao ar das silagens reensiladas reduziu o valor nutricional, tendo em vista os dados de composição química e perfil fermentativo. Além disso, a exposição ao ar aumentou o teor de ácido acético, porém não teve efeito sobre a estabilidade aeróbica. Ademais, é importante a condução de futuros estudos que avaliem o efeito da reensilagem sobre o consumo e desempenho animal, visto que esse tratamento reduziu a DIVMS e o teor de CNF, além da escassez de trabalhos publicados acerca dessa temática.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDES, T.F., DANIEL, J.L.P., ADESOGAN, A.T., MCALLISTER, T.A., DROUIN, P., NUSSIO, L.G., Huhtanen, P., Tremblay, G.F., Bélanger, G., Cai, Y., Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions, **Journal of Dairy Science**, Volume 101, Issue 5, 2018, Pages 4001-4019, ISSN 0022-0302.

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. 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.

BORENSTEIN, M., HEDGES, L.V., HIGGINS, J.P., ROTHSTEIN, H.R., 2010. A basic introduction to fixed-effect and random-effects models for meta-analysis. **Researches Synthesis Methods** 1,97–111.

BORREANI, G., TABACCO, E., SCHMIDT, R. J., HOLMES, B. J., & MUCK, R. E. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, 101, 3952–3979.

BRÜNING, D., GERLACH, K., WEIß, K., & SÜDEKUM, K. H. (2017). Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on forage choice and short-term intake of maize silage by goats. **Grass and Forage Science**, 73, 392–405.

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

COELHO, M.M, GONÇALVES, L.C., RODRIGUES, J.A.S. *et al.* Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.53, n.9, p.1045-1052. 2018.

DEEKS, J.J., HIGGINS, J.P.T., ALTMAN, D.G., 2019. ANALYSING DATA AND UNDERTAKING METAANALYSES. IN: HIGGINS, J.P.T., THOMAS, J., CHANDLER, J., CUMPSTON, M., LI, T., PAGE, M. J., WELCH, V.A. (Eds.), *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. **The Cochrane Collaboration**, London, pp. 241–284.

DE LIMA, T. O., LINO, A.A., SANCHES, L.A., BRITO, V.M., ARAÚJO, S.N.S., SANT'ANNA, M.A.C., ARAÚJO, L.C. Quality of re-ensiled sorghum silages after prolonged periods of environmental exposure. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p. 357-362, 2020.

DOS ANJOS, G.V.S., GONÇALVES, L.C., RODRIGUES, J.A.S. *et al.* Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. **Journal of Dairy Science**. 101:6047–6054. 2018.

EGGER, M., SMITH, G.D., SCHNEIDER, M., MINDER, C., 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. **BMJ** 315, 629–634.

FARIA E.F.S., SILVA T.C.D.A., PINA D.S., SANTOS E.M., ARAÚJO M.L.G.M.L., SILVA L.O.D.A., CARVALHO G.G.P., (2020). Do re-ensiling time and application of *Lactobacillus buchneri* alter the characteristics of sugarcane silage? **The Journal of Agricultural Science** 1–9.

HIGGINS, J.P., THOMAS, J., CHANDLER, J., CUMPSTON, M., LI, T., PAGE, M.J., WELCH, V.A., 2019. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*, first ed..., **The Cochrane Collaboration**, London.

HIGGINS, J.P., THOMPSON, S.G., 2002. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. **Statistics in Medicine**. 21, 1539–1558.

HIGGINS, J.P., THOMPSON, S.G., DEEKS, J.J., ALTMAN, D.G., 2003. Measuring inconsistency in meta-analyses. **BMJ** 327, 557–560.

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.

KUNG, L. JR., SHAVER, R.D., GRANT, R.J., SCHMIDT, R.J., Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages, **Journal of Dairy Science**, Volume 101, Issue 5, 2018, Pages 4020-4033, ISSN 0022-0302.

LIMA, L. M., DOS SANTOS, J. P., CASAGRANDE, D. R., ÁVILA, C. L. S., LARA, M. A. S., & BERNARDES, T. F. (2017). Lining bunker walls with oxygen barrier film reduces nutrient losses in corn silages. **Journal of Dairy Science**, 100, 4565–4573.

LIMA, E. M., GONÇALVES, L. C., KELLER, K. M. *et al.* Re-ensiling and its effects on chemical composition, in vitro digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure to air. **Canadian Journal of Animal Science**. 97: 250–257. 2017.

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.

MENEZES, G. L., DE OLIVEIRA, A. F., DE ASSIS PIRES, F. P. A., GONÇALVES, L. C., DE MENEZES, R. A., DE SOUSA, P. G., DE MEDEIROS, P. H. A., DE PINHO, M. M., LANA, Â. M. Q., DE ARAÚJO, V. E., & JAYME, D. G. (2023). Efficacy of adding chemical and microbial additives to silage on beef cattle performance: Systematic review and meta-analysis. **Grass and Forage Science**, 78(1), 1– 22.

MENEZES, G. L., DE OLIVEIRA, A. F. GONÇALVES, L. C., Pires, F.P.A.A., DE MENEZES, R. A., DE SOUSA, P. G., Azevêdo, J.A.G., LANA, Â. M. Q., DE PINHO, M. M., DE ARAÚJO, V. E., JAYME, D. G., Efficacy of formic acid, enzymes, and microbial additives

in silage on the performance of sheep: Systematic review and meta-analysis, **Small Ruminant Research**, Volume 212, 2022, 106706, ISSN 0921-4488.

MICHEL, P.H.F., GONÇALVES, L.C., RODRIGUES, J.A.S. *et al.* Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. **Grass and Forage Science**, 72:3. 432-440. 2016.

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

MULROONEY, C. N., & KUNG, L. JR (2008). The effect of water temperature on the viability of silage inoculants. **Journal of Dairy Science**, 91, 236–240.

OGUNADE, I.M., MARTINEZ-TUPPIA, C., QUEIROZ, O.C.M., JIANG, Y., DROUIN, P., WU, F., VYAS, D., ADESOGAN, A.T., Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation, **Journal of Dairy Science**, Volume 101, Issue 5, 2018, Pages 4034-4059, ISSN 0022-0302.

OLIVEIRA, A.S., WEINBERG, Z.G., OGUNADE, I.M., CERVANTES, A.A., ARRIOLA, K.G., JIANG, Y., KIM, D., LI, X., GONÇALVES, M.C.M., VYAS, D., ADESOGAN, A.T., 2017. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 100, 4587–4603.

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).

QUEIROZ, A.C.M., MENDONÇA, R.C.A., SANTOS, R.I.R, CARDOSO, M.V.S.B., DOMINGUES, F.N., FATURI, C., SILVA, T.C., RÊGO, A.C., Effects of whole-plant corn silage relocation on quality, chemical composition, and intake, digestibility, and nitrogen balance in sheep, **Small Ruminant Research**, Volume 205, 2021, 106558, ISSN 0921-4488.

QUEIROZ, O.C.M., OGUNADE, I.M., WEINBERG, Z., ADESOGAN, A.T., 2018. Silage review: foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. **Journal of Dairy Science**.101, 4132–4142.

ROOKE, J.A. AND HATFIELD, R.D. (2003). Biochemistry of Ensiling. **Silage Science and Technology** (eds D.R. Buxton, R.E. Muck and J.H. Harrison).

SANTOS, F.P.C., DE OLIVEIRA, A.F., DE SOUZA, F.A., et al. Re-ensiling effects on sorghum silage quality, methane emission and sheep efficiency in tropical climate. **Grass Forage Science**. 2021; 76: 440– 450.

TABACCO, E., RIGH, I. F., QUARANTELLI, A., & BORREANI, G. (2011). Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. **Journal of Dairy Science**, 94, 1409–1419.

TIAN. J., YIN. X., ZHANG. J., (2022) Changes of the fermentation quality and microbial community during re-ensiling of sweet corn stalk silage, **Italian Journal of Animal Science**, 21:1, 168-177.

TOMICICH, T. R. et al. Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação. **Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.

VIECHTBAUER, W., 2007. Hypothesis tests for population heterogeneity in meta-analysis. **Br. Journal of Mathematical and Statistical Psychology** 60, 29–60.

WEISS, K., KROSCHEWSKI, B., & AUERBACH, H. (2016). Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. **Journal of Dairy Science**, 99, 8053–8069. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10323>.

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.

YIN, X., TIAN, J. AND ZHANG, J. (2021), Effects of re-ensiling on the fermentation quality and microbial community of napier grass (*Pennisetum purpureum*) silage. **Journal of Science Food Agricultural**, 101: 5028-5037.

ZOPOLLATTO, M., DANIEL, J. L. P., & NUSSIO, L. G. (2009). Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira De Zootecnia**, 38(R. Bras. Zootec., 2009 38(spe), 170–189.