

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

**REENSILAGEM E USO DE INOCULANTE BACTERIANO NA QUALIDADE  
DE SILAGEM DE SORGO.**

**FLÁVIA CRISTINA DE OLIVEIRA E SILVA**

**BELO HORIZONTE**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG**  
**2019**

**Flávia Cristina de Oliveira e Silva**

**REENSILAGEM E USO DE INOCULANTE BACTERIANO NA QUALIDADE  
DE SILAGEM DE SORGO.**

Dissertação apresentada ao Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientador: Prof. Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte - MG  
Escola de Veterinária - UFMG  
2019

S586r Silva, Flávia Cristina de Oliveira e, 1992-  
Reensilagem e uso de inoculante bacteriano na qualidade de silagem de sorgo /Flávia Cristina de Oliveira e  
Silva – 2019.

40p.: il.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Dissertação de Mestrado apresentado a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

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

**CDD – 633.2**

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

**Dissertação defendida e aprovada em 21 de fevereiro de 2019**

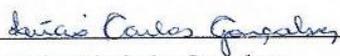
**Comissão examinadora:**



---

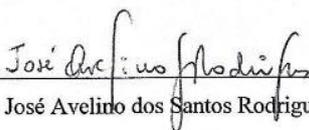
Prof. Diogo Gonzaga Jayme

Orientador



---

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves



---

Dr. José Avelino dos Santos Rodrigues

## **DEDICATÓRIA**

A minha mãe Lana, exemplo de resiliência, força e amor. Meu maior motivo para acordar todos os dias e continuar lutando. Meu conforto à uma ligação de distância. Minha mãe n°1.

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Diogo Gonzaga Jayme, pelo apoio e exemplo ao longo de todos esses anos.

Ao professor Lúcio Carlos Gonçalves, pelos ensinamentos.

Ao pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Dr. José Avelino Santos Rodrigues, pelo profissionalismo e empenho na realização desse experimento, e pelo carinho de sempre.

A professora Kelly e ao grupo do LAMICO, pela paciência e dedicação na realização das análises microbiológicas.

Ao departamento de Zootecnia da EV-UFGM, pela oportunidade de crescimento profissional.

A CAPES, pelo apoio financeiro concedido.

Aos meus pais Lana e Rogério, e ao meu Irmão Paulo, pelo apoio e incentivo de sempre, pelo carinho, e pela oportunidade de chegar até aqui.

Aos meus Tios Rosania, Euripedes, Lúcia e Vilmar (*in memoriam*). E a minha madrinha Ireni, exemplo de paz, de carinho e de amor, agradeço pela confiança de sempre. Vocês sempre fizeram eu me sentir especial e amada. Família representa amor na minha vida graças a existência de vocês.

Aos amigos Jessica G., Isabella H., Jessica M., Karla, Elen, Marina, Fioroto, Raul, Tainá, Andresa, pelo apoio incondicional e a amizade a todo momento, por terem conversado comigo nos momentos em que eu me senti perdida e sozinha.

As garotas da forragem, Hoske, Maldini, Miss, Fabi, Naiarita e Thaisão, pelo carinho e apoio diário.

Aos meus colegas do grupo de Forragicultura, pelo incentivo e ajuda durante a realização deste experimento.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

## Sumário

|  |    |
|--|----|
| <b>LISTA DE TABELAS</b> .....  | 7  |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....   | 8  |
| <b>RESUMO</b> .....  | 9  |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | 10 |
| <b>CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....  | 11 |
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 11 |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | 11 |
| <b>2.1 A cultura do Sorgo</b> .....  | 11 |
| <b>2.2 Conservação de forragem: Silagem.</b> .....   | 12 |
| <b>2.3 Reensilagem como prática produtiva</b> .....  | 14 |
| <b>2.4 Qualidade de Silagens</b> .....   | 15 |
| <b>2.5 Inoculantes Bacterianos</b> .....   | 17 |
| <b>3 CONCLUSÕES</b> .....  | 18 |
| <b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....  | 19 |
| <b>CAPÍTULO II - Artigo – Reensilagem e uso de inoculante bacteriano na qualidade de silagem de sorgo.</b> ..... | 24 |
| <b>RESUMO</b> .....  | 24 |
| <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | 25 |
| <b>MÉTODOS</b> .....   | 26 |
| Plantio, colheita e ensilagem.....   | 26 |
| Design Experimental .....  | 27 |
| Análises de Perdas.....  | 27 |
| Análises de qualidade das silagens.....  | 29 |
| Avaliação da estabilidade aeróbia das silagens .....   | 29 |
| Análises microbiológicas .....   | 29 |
| Composição química, digestibilidade <i>in vitro</i> e recuperação de matéria seca. ....                          | 30 |
| Análise estatística.....   | 30 |
| <b>RESULTADOS</b> .....  | 31 |
| <b>DISCUSSÃO</b> .....   | 32 |
| <b>CONCLUSÃO</b> .....   | 35 |
| <b>ABREVIACÕES</b> .....   | 35 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | 35 |
| <b>TABELAS</b> .....   | 38 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1-</b> Composição química das plantas de sorgo utilizadas na ensilagem em g.kg <sup>-1</sup> de MS.....                           | 38 |
| <b>Tabela 2-</b> Composição química e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca das silagens de sorgo reensiladas com inoculante..... | 38 |
| <b>Tabela 3-</b> Perda de matéria seca por gases, efluentes e totais de silagens de sorgo reensiladas com inoculante.....                   | 39 |
| <b>Tabela 4-</b> pH e N-NH <sub>3</sub> .NT <sup>-1</sup> das silagens de sorgo reensiladas com inoculante.....                             | 39 |
| <b>Tabela 5-</b> Contagem de leveduras, fungos e bactérias, e estabilidade aeróbica de silagens de sorgo reensiladas com inoculante .....   | 40 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

CNF = Carboidratos Não Fibrosos  
DIVMS = Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca  
DRBC = Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar  
EE = Extrato Etéreo  
EPM = Erro Padrão da Média  
FDA = Fibra em Detergente Ácido  
FDAcp = Fibra em Detergente Ácido corrigida pra cinzas e proteína  
FDN = Fibra em Detergente Neutro  
FDNcp = Fibra em Detergente Neutro corrigida pra cinzas e proteína  
I = Inoculante  
INMET = Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil  
LP = *Lactobacillus plantarum*  
MS = Matéria Seca  
MSab = Teor de matéria seca da forragem na abertura  
MSen = Teor de matéria seca da forragem na ensilagem  
MVi = Massa verde de forragem ensilada  
N = Nitrogênio  
NH<sub>3</sub> = Nitrogênio Amoniacal  
NPK = Nitrogênio, Fósforo, Potássio  
NS = Não Significativo  
NT = Nitrogênio Total  
PA = *Propionibacterium acidipropionici*  
Pab = Peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura  
PB = Proteína Bruta  
PCA = Ágar Contagem Padrão  
PCab = Peso do balde cheio na abertura  
PCen = Peso do balde cheio na ensilagem  
PE = Perdas por efluente  
Pef = Peso de efluente  
Pen = Peso do conjunto (balde vazio + tampa + areia seca + saco) na ensilagem  
PIDA = Proteína Insolúvel em Detergente Ácido  
PIDN = Proteína Insolúvel em Detergente Neutro  
PMS = Perda total de MS  
RE = Reensilagem  
SIL = Silagem  
TGY = Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar

---

## RESUMO

A ensilagem é o processo de conservação de forragens mais utilizado. A compra de silagem de outros produtores é uma prática que vem crescendo no campo, devido à dificuldade de alguns produtores em produzir silagem dentro da propriedade. Até o momento da reensilagem o material é exposto ao oxigênio e micro-organismos deterioradores de ácido láctico podem converter esse ácido a ácido acético, com aumento do pH. Esse aumento de pH permite o crescimento de fungos na silagem. A utilização de inoculante pode melhorar a fermentação e controlar a estabilidade da silagem em meio aeróbio. Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem após 48 horas e do uso de inoculante microbiano na qualidade de silagens de sorgo. O híbrido de sorgo BRS 658 foi cultivado e ensilado com adição de inoculante *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*. Após 56 dias, o material foi desensilado e reensilado após 48 horas de exposição ao ar. A reensilagem aumentou as perdas por gases, efluentes e totais. Enquanto o inoculante aumentou as perdas por efluentes. Não houve alterações significativas ( $p>0,05$ ) na composição química do material, nem na DIVMS. O inoculante reduziu o pH e o  $N-NH_3.NT^{-1}$  das silagens, enquanto a reensilagem aumentou os mesmos fatores. Essas alterações não alteraram a qualidade da silagem produzida. A estabilidade aeróbia das silagens reensiladas foi menor que das silagens convencionais e o inoculante não teve efeito significativo nessa variável. Na contagem de micro-organismos, houve interação entre o inoculante e a reensilagem para contagens de bactéria no momento da abertura e de leveduras no momento da perda da estabilidade. A reensilagem aumentou a contagem de fungos no material. No entanto, essas alterações não foram significativas para alterar a qualidade do material ensilado. A utilização de inoculantes nas silagens de sorgo reensiladas não melhorou a qualidade do material. A reensilagem do material aumentou as perdas de matéria seca, mas não provocou alterações significativas valor nutricional.

Palavras chave: *Propionibacterium acidipropionici*, *Lactobacillus plantarum*, aditivos, perda de matéria seca, realocação de silagem

## ABSTRACT

Silage is the most used forage conservation process in Brazil. The specialization in the production of meat and milk has increased the practice of re-ensiling in Brazil and the world. The purchase of silage from farms specialized in the production of roughage is a common and frequent practice. However, the lack of control and information to regulate this practice still raises doubts among producers at the time of acquisition. When the silage is relocated there is an aerobic exposure of the material. The exposure allows the growth of microorganisms such as yeasts and mold that cause deterioration of the silage, which can compromise the quality and nutritional value. To solve this problem, the microbial inoculants use in green material is increasing frequently, with the objective of improve the silage aerobic stability. The objective of this study was to determine the effect of re-ensiling after 48 hours and microbial inoculant use on the quality of sorghum silages. The losses of gases (+ 8%) and effluents (+ 50%) were higher in the re-ensiled silages ( $P < 0.05$ ). Thus, the total losses were 17% higher than in conventional silage. The re-ensiling reduced the aerobic stability of the silages ( $P < 0.05$ ) in 3.8 days, and increased the mold count in silages with and without inoculant,  $2.13 \times 10^5$  and  $4.16 \times 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> of green mass (GM), respectively. The use of inoculant reduced the pH of the silages to 5% ( $P < 0.05$ ). The re-ensiling increased the silages pH by an average of 5.5% ( $P < 0.05$ ). The concentrations of N-NH<sub>3</sub>.NT<sup>-1</sup> were reduced in silages inoculated (18.34%) and higher in silages re-ensiled (28.88%). The re-ensiling after 48 hours did not affect the quality of sorghum silages. The use of inoculants in the sorghum silages re-ensiled did not improve the quality of the material.

Keywords: *Propionibacterium acidipropionici*, *Lactobacillus plantarum*, additives, dry matter loss, silage relocation

## REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA

### 1 INTRODUÇÃO

A compra de silagem de outros produtores é uma prática que vem crescendo no campo, pois apesar da tecnologia de ensilagem de sorgo no Brasil ser bem difundida, os produtores encontram dificuldades para produzir silagem em sua propriedade. A ineficiência produtiva é devido aos períodos longos de estiagem durante o período chuvoso, ao mal planejamento produtivo e às perdas excessivas na produção, a área insuficiente para cultivo, a mão de obra não treinada, o maquinário para plantio e colheita, e alto custo de produção alto (Coelho et al., 2018; Lima et al., 2016; Michel et al., 2017).

Com o objetivo de melhorar a estabilidade aeróbia e reduzir a deterioração de silagens expostas ao ar, vários aditivos químicos e microbiológicos têm sido estudados. Os inoculantes disponíveis no mercado são compostos por uma bactéria homofermentativas (gênero *Lactobacillus*), com o intuito de melhorar a produção de ácido láctico, e espécies de *Propionibacterium* também são utilizadas com o objetivo de aumentar a estabilidade aeróbica do material ensilado.

Alguns trabalhos analisando a reensilagem já foram desenvolvidos (Chen e Weinberg, 2014; dos Anjos et al., 2018; Michel et al., 2017). As variáveis do processo produtivo de silagens de sorgo como novos híbridos, tempo de exposição ao ar e uso de aditivos para controlar as perdas do processo, são tópicos que devem ser largamente estudados. Objetivou-se apresentar resultados do uso de inoculantes e reensilagem.

### 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 A cultura do Sorgo

O sorgo granífero (*Sorghum bicolor* L. Moench) está entre os cinco cereais mais cultivados do mundo. Segundo dados da USDA (United States Department of Agriculture (USDA), 2018), o EUA é o maior produtor de sorgo (=19,25%), com a maior produtividade mundial, junto à Argentina, produzindo em média 48 toneladas de Sorgo grão. O continente africano, de onde a planta se originou, detém grandes produtores, Nigéria, Etiópia, Sudão e África do Sul, que juntos dominam a produção (=49,52%).

Essa expansão comercial é devido as características das planta de sorgo, principalmente sua capacidade de adaptação à seca (Do Nascimento et al., 2008). A planta

consegue paralisar o seu desenvolvimento em espera de condições favoráveis de precipitação, e quando chove ela consegue recuperar e produzir grãos.

Esta capacidade é reforçada pela presença de um sistema radicular abundante e profundo e pela menor desidratação propiciada por algumas características como a presença de cerosidade e ausência de pilosidades. Desta forma, pode ser cultivado em regiões com índices pluviométricos entre 380 e 600 milímetros. É uma cultura tolerante a diversas condições de solo de forma que pode ser implantada em solos que variam de argilosos a ligeiramente arenosos. Não tolera solos mal drenados e sobrevive melhor que outros cereais em solos arenosos e de baixa fertilidade.

O sorgo pode ser utilizado em pastejo direto, corte verde, feno, grãos e silagem, na alimentação animal. A silagem de sorgo é a principal forma de utilização na alimentação de ruminantes. A utilização da silagem de sorgo intensificou-se com o aparecimento de variedades de porte alto caracterizadas por alta produtividade por hectare. Com a intensificação do sistema surgiu a exigência de materiais de melhor qualidade nutricional (Souza et al., 2003).

## **2.2 Conservação de forragem: Silagem.**

Na ensilagem, o sorgo destaca-se por sua alta concentração de carboidratos solúveis, que representa a maior parte da matéria orgânica fermentada no silo. Os valores de matéria orgânica prontamente fermentável, glicose, sucrose e frutose, chegam a 40% da matéria seca (Xing et al., 2009). Os carboidratos solúveis permitem que ocorra a produção de ácidos orgânicos que reduzem o pH da massa ensilada, permitindo que o desenvolvimento de micro-organismos proteolíticos seja inibido (Ott et al., 2018). São estas características que fazem do sorgo uma boa opção para ensilagem.

Devido as condições climáticas brasileiras, a distribuição de forragens é irregular ao longo do ano. Nas águas temos abundancia em forragem e nas secas restrição. Alguns recursos são necessários para conservar o excesso de forragem produzido nas águas, e possibilite seu uso no período seco (Vieira et al., 2004). A ensilagem é recomendada como prática de conservação de forragem e consiste na fermentação anaeróbica de plantas forrageiras, constitui-se de uma boa opção de conservação de alimentos volumosos (McDonald et al., 1991).

Quando realizada dentro das técnicas e padrões recomendados, há conservação do valor nutritivo do material verde, o que garante o fornecimento de volumoso de boa

qualidade para os animais por todo ano (Dias et al., 2001). Com um bom planejamento de volumoso na propriedade, há redução da necessidade de venda de animais a baixo custo por falta de pastagens, e é possível ainda minimizar os custos de produção sem afetar os índices produtivos e reprodutivos.

A preocupação com a preservação dos nutrientes começa na colheita e termina com o fornecimento para o animal. O processo de ensilagem pode ser considerado com 4 fases principais (Wilkinson e Davies, 2013). A primeira fase é a aeróbica e inicia-se com a colheita. A preocupação com o estágio de maturação no momento da colheita deve ser principalmente quanto ao teor de matéria seca, que deve estar entre 25-35%.

A fase de enchimento do grão pode ser um indicador. O sorgo ensilado nos estágios de maturação mais tardio é mais estável ao ar que o sorgo colhido com o grão farináceo. No entanto, com o avançar da idade da planta há queda na digestibilidade (Weinberg et al., 2011; Wilkinson e Davies, 2013). No momento da colheita é importante se atentar para o tamanho e uniformidade de partícula do material colhido, com maior parte do material entre 1-2cm. Práticas mais atuais utilizam o *Penn State Particle Size Separator* para regular o tamanho da partícula no momento da ensilagem.

O material colhido deve passar pela compactação, método que tem importância direta na manutenção do ambiente anaeróbico e, se realizada de maneira errônea, aumenta as perdas de MS. Wilkinson e Davies (2013) observaram que em densidades acima de 240kg de MS/m<sup>3</sup> as perdas de matéria seca são menores do que as silagens compactadas com menos de 210kg de MS/m<sup>3</sup>.

Após a compactação o silo deve ser vedado. Quanto menor o tempo entre o corte e a vedação, menor serão as perdas por respiração aeróbica no material. O filme de Polietileno fornece uma boa barreira para todos os tipos de silo (Borreani et al., 2018). Uma boa vedação é essencial para que a segunda fase ocorra.

A segunda fase inicia-se com o processo de fermentação anaeróbica, em que bactérias ácido lácticas epífitas utilizam carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente láctico. Esta maior produção de ácido láctico é responsável pela queda do pH, essencial na manutenção do valor nutritivo do material ensilado. A forragem então é preservada, contando que não haja penetração de ar na silagem.

A entrada de ar durante essa fase é a principal causa de danos na silagem e perdas de material, pois o oxigênio permite a respiração dentro silo. Desse modo, a atividade de micro-organismos indesejáveis como leveduras e fungos resulta em perdas de nutrientes

por fermentação (Weinberg et al., 2011). O tempo de estocagem após a fase de fermentação ter estabilizado até a abertura do silo é a fase três da ensilagem.

A fase quatro é a fase de fornecimento do material pronto para os animais (Wilkinson e Davies, 2013). O ar pode penetrar no painel da silagem aberta de um a quatro metros, quanto menor a compactação maior será a penetração do oxigênio. É importante colocar peso sobre o silo, como pneus e terra, para manter o plástico em contato com a silagem mesmo depois do silo aberto (Borreani e Tabacco, 2008).

A recomendação para retirada diária de faixa de silagem para oferecimento do trato dos animais é de 20 cm por dia. Esta recomendação parte do pressuposto que, em uma boa silagem, o ar penetra um metro por dia no painel da silagem exposto ao ar, e que a perda de estabilidade começa a partir do quinto dia de exposição (Kung et al., 2018; Wilkinson e Davies, 2013). Assim, em cinco dias o metro que foi exposto ao oxigênio será utilizado.

### **2.3 Reensilagem como prática produtiva**

A variação climática durante o período de chuvas no Brasil é um grande entrave na produção de silagem de qualidade com bons rendimentos. A ineficiência produtiva ocorre devido a longos períodos de estiagem, o mal planejamento produtivo e perdas excessivas na produção, a área insuficiente para cultivo, a mão de obra não treinada, a falta de maquinário para plantio e colheita e custos de produção elevados para a prática (Coelho et al., 2018; Lima et al., 2016).

Para atender a demanda do déficit de volumoso, principalmente nas secas, alguns agricultores se especializaram na produção de silagem (dos Anjos et al., 2018). Alguns produtores são mais eficientes na produção, por estarem localizados em áreas com regime de chuvas mais uniforme ou possuem sistemas de irrigação, conseguem produzir e comercializar o excedente (Coelho et al., 2018; Michel et al., 2017). A comercialização do produto pode ser verde, para ensilar na propriedade, ou da forragem ensilada. Quando ensilado em silos fixo é necessário desensilar e reensilar na propriedade que fez a compra.

Com a abertura do silo, ocorre exposição aeróbia de um material que já se encontrava na fase de estabilidade da fermentação. O oxigênio contribui negativamente para a qualidade da silagem durante o enchimento, armazenamento e desabastecimento, e durante a transferência de silagem entre silos. Essa exposição ocorre até o momento da reensilagem, que pode demorar de 1 a 2 dias. Este tempo é dependente da distância entre

fazendas e da mão de obra e maquinário disponíveis para reensilar o material na propriedade.

Essa prática começou a ser estudada recentemente no Brasil (Coelho et al., 2018; dos Anjos et al., 2018; Lima et al., 2016; Michel et al., 2017) e em outros lugares do mundo (Chen & Weinberg, 2014). A compra é vantajosa para os produtores que não possuem a estrutura necessária para produção de silagem, em produções ineficientes os prejuízos podem ser altos.

A literatura sobre reensilagem de sorgo ainda é escassa (dos Anjos et al., 2018; Michel et al., 2017), ainda é necessário estudar as variáveis do processo produtivo, os novos híbridos de sorgo, o tempo de exposição ao ar e o uso de aditivos para controlar as perdas do processo. Assim, a eficiência do processo produtivo será maior e o agricultor poderá obter maiores lucros na venda.

## **2.4 Qualidade de Silagens**

No processo de ensilagem pode ocorrer a redução do valor nutricional. Depois da vedação do silo há presença de oxigênio residual, mesmo quando bem compactado. O oxigênio permite que micro-organismos deterioradores aeróbicos usem a matéria seca como fonte de energia, o que aumenta as perdas. Essas perdas são na forma de efluente, e devem ser evitadas pois aumentam a proteólise e permitem o estabelecimento de bactérias do gênero *Clostridium* (de Oliveira et al., 2010). A perda de matéria seca implica em perda de nutrientes importantes, e consequente redução da qualidade.

As bactérias aeróbicas usam carboidratos solúveis como substrato para produzir água, gás carbônico, amônia e calor (Borreani et al., 2018). A elevação de temperatura no silo pode ultrapassar 40°C, quando começa a reação de Maillard, que desnatura proteínas reduzindo sua digestibilidade (Weinberg et al., 2011).

É importante avaliar a qualidade de silagens produzida, para medir a eficiência da propriedade e identificar erros no processo. Uma silagem que não foi bem produzida altera suas características organolépticas e reduz o consumo do animal. Muitas vezes a observação visual já é suficiente para identificar uma silagem de má qualidade. Mas existem parâmetros que ajudam a definir a qualidade do processo fermentativo (Ott et al., 2018).

O teor de matéria seca é um parâmetro importante, e deve ser considerado no momento do corte. Um bom conteúdo de matéria seca é o primeiro passo para uma

silagem de qualidade. O pH, Nitrogênio amoniacal e os ácidos graxos voláteis, são indicativos da qualidade da fermentação da silagem, processo importante para a conservação da forrageira. A contagem microbiológica de bactérias, leveduras e fungos permite identificar o tipo de fermentação que ocorreu no silo e como os micro-organismos estão distribuídos.

A perda da estabilidade aeróbica é definida pelo momento em que a silagem, em exposição constante ao ar, apresenta 2°C acima da temperatura ambiente. A temperatura, em silagens bem conservadas, atinge um platô após 24 horas de ensilagem. Há degradação de lactato, acetato e outros produtos da fermentação, o que leva ao aumento do pH do meio. As leveduras utilizadoras de lactato, que iniciam o processo aeróbico, são capazes de crescer intensamente na presença de oxigênio (Lowes et al., 2000).

São essas leveduras, utilizadoras de lactato, que aumentam o pH e a temperatura da silagem, por consumir ácidos orgânicos liberando calor. Há então crescimento de micro-organismos potencialmente patogênicos para o animal, sequencialmente os bacilos e outras bactérias, como a *Listeria monocytogens* (Lindgren et al., 2002), e, por fim os fungos (Borreani & Tabacco, 2010).

O calor acima da temperatura ambiente no centro do silo nem sempre significa deterioração, principalmente em regiões em que as temperaturas são frias (12°C). Na região sul do Brasil por exemplo, a temperatura da silagem tende ficar em torno dos 20°C (Borreani & Tabacco, 2010).

O calor liberado pelas reações aeróbicas é esperado e normal, mesmo em silos bem feitos. A temperatura do silo é maior que a temperatura do material no momento da colheita (Adesogan and Newman, 2014). No entanto, deve-se tomar alguns cuidados na fase aeróbica, do corte até o início da fermentação aeróbica. Ensilar com alta temperatura ou em dias chuvosos pode aumentar as perdas na ensilagem (Weinberg et al., 2001; Ashbell et al., 2002).

O ideal em temperaturas elevadas é reduzir o tempo entre a vedação e o início da fase fermentativa. Quando a temperatura aumenta devido a atividade de micro-organismos aeróbicos o valor nutritivo pode reduzir até 16%, antes mesmo dos fungos serem visíveis (Borreani et al., 2018).

A deterioração aeróbia das silagens altera as características organolépticas do material ensilado, reduz a ingestão de matéria seca pelo animal em até 50%. Devido principalmente ao aumento de temperatura e alterações no pH (Gerlach et al., 2013; Kung et al., 2018). Existem maneiras de controlar a estabilidade da silagem. O maior esforço

deve ser em reduzir a fase aeróbica no processo. Atrasos no enchimento do silo, compactação ineficiente e vedação tardia afetam diretamente na qualidade.

Brüning et al., (2018) observaram que as forragens expostas por 2 e 4 dias antes do silo ser vedado aumentaram as concentrações de Nitrogênio Não Proteico (NNP), Nitrogênio amoniacal, etanol e acetato-etil. Nesse mesmo trabalho, expondo por 4 dias a silagem teve perdas de MS de até 11%, com aumento da população de fungos e queda de 65% da quantidade de carboidratos solúveis.

Um bom manejo na ensilagem é fundamental para produção de silagens de qualidade. Ainda assim, a ensilagem é considerada um processo não controlado que depende da microflora epifítica da planta (Herrmann et al., 2011). O uso de inoculantes microbiológicos surge como opção para reduzir o tempo entre o fechamento do silo e o início da fermentação (Borreani et al., 2018). Como tal, pesquisas futuras com inoculantes e aditivos podem ser melhor direcionadas para forragens ou situações de colheita particularmente desafiadoras.

## **2.5 Inoculantes Bacterianos**

A fim de controlar ou assegurar o curso do processo de ensilagem, aditivos podem ser utilizados. Os aditivos de silagem geralmente caem em uma ou mais das categorias a seguir: (1) estimulantes da fermentação, (2) inibidores da fermentação, (3) inibidores da deterioração aeróbia, e (4) nutrientes e absorventes (McDonald et al., 1991; Kung et al., 2003).

Os aditivos químicos inibem ou restringem a fermentação e a deterioração aeróbica, enquanto os inoculantes microbianos estimulam a fermentação. A melhora da fermentação e da estabilidade aeróbia de silagens é largamente estudado no mundo. Como tal, pesquisas futuras com inoculantes e aditivos podem ser melhor direcionadas para forragens ou situações de colheita particularmente desafiadoras (Coblentz e Akins, 2018).

As bactérias utilizadas podem ser homofermentativas, ou heterofermentativas facultativas. Nesse grupo encontramos *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium*, e várias espécies de *Pediococcus* (Muck et al., 2018). A função dessas bactérias é reduzir o tempo entre a vedação e o início da fase 2. Para que ocorra a queda do pH mais rapidamente e inibição do crescimento de micro-organismos indesejáveis como enterobactérias, bactérias do gênero Clostridia, Bacilos e os seus respectivos efeitos na redução da qualidade da silagem (Dunière et al., (2013).

A *Lactobacillus plantarum* é a bactéria mais utilizada. As cepas no mercado foram selecionadas pelo seu rápido crescimento e domínio da fermentação de silagem. As bactérias homofermentativas produzem uma fermentação alta em ácido láctico, enquanto as heterofermentativas produzem um mix de produtos e fermentam ácido láctico em ácido acético (Kristensen et al., 2010; Heinritz et al., 2012).

Em contrapartida, a utilização de bactérias homofermentativas no momento da ensilagem reduz o tempo de estocagem e a estabilidade aeróbica da silagem em alguns casos (Muck et al., 2018), em que cerca de 30% há redução (Muck e Kung Jr., 1997). Isso ocorre pois há redução na produção de ácido acético, que é um potente inibidor da proliferação de leveduras (Wilkinson e Davies, 2013). As leveduras são responsáveis pelo início do processo de deterioração aeróbica.

Espécies de *Propionibacterium* também são utilizadas no momento da ensilagem com o objetivo de aumentar a estabilidade aeróbica do material ensilado. A utilização do *Propionibacterium acidipropionici* sozinho aumentou a produção de ácido acético e propiônico, quando comparada com silagens não tratadas, essa maior produção impactou diretamente na contagem de leveduras depois da silagem exposta (Filya et al., 2006).

O ácido láctico é um ácido forte (pKa 3.86), que reduz e mantém o pH da silagem baixo. O ácido acético tem menor força (pKa 4.76), porém é um bom inibidor de leveduras e fungos o que tem importância na melhora da estabilidade aeróbia das silagens (Muck, 2010).

Hoje no mercado encontramos as opções combinadas de inoculantes homofermentativos e heterofermentativos. Os homofermentativos tem como objetivo controlar o período ativo da fermentação, reduzem o pH rapidamente inibindo as enterobactérias, os clostrídios e os outros micro-organismos. O que resulta em redução da proteólise e da perda de matéria seca. Enquanto as bactérias heterofermentativas obrigatórias, a mais comum *Lb. Buchneri*, convertem lentamente o ácido láctico em acético depois do período ativo de fermentação, aumentam o pH e melhoram as características de estabilidade da silagem (Muck et al., 2018).

### 3 CONCLUSÕES

Nas últimas décadas a inoculação de silagens para melhorar qualidade de fermentação e reduzir a deterioração vem sendo amplamente estudada. Muito se avançou

quanto a tecnologia de produção de silagens. No entanto, poucos trabalhos foram feitos avaliando os efeitos da reensilagem associada ao uso de inoculantes.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Hen, Y. et al. (2002). The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* (2002) 28, 261 – 263. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000237>.

Borreani, G., Tabacco, E. (2008). Low Permeability to Oxygen of a New Barrier Film Prevents Butyric Acid Bacteria Spore Formation in Farm Corn Silage. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4272–4281. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1151>.

Borreani, G., Tabacco, E. (2010). The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2620–2629. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2919>.

Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R. J., et al. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3952–3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>.

Brüning, D., Gerlach, K., Weiß, K., et al. (2018). Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. *Grass and Forage Science*, 73(1), 53–66. <https://doi.org/10.1111/gfs.12288>.

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(1), 406–410. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7098>.

Coblentz, W.K., Akins, M.S. (2018). Silage review: Recent advances and future technologies for baled silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4075–4092. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13708>.

Coelho, M.M., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., et al. (2018). Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant|Características químicas, estabilidade aeróbia e contagem microbiológica de silagens de milho reensiladas com inoculante bacterian. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53(9), 1045–1052. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000900008>.

de Oliveira, L. B., Pires, A. J. V., de Carvalho, G. G. P., et al. (2010). Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo-sudão, sorgo forrageiro e girassol. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1), 61–67. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000100008>.

Dias, A.M.A., Batista, A.M.V, Ferreira, M.A., et al. (2001). Efeito do Estádio Vegetativo do Sorgo ( *Sorghum bicolor* , ( L. ) Moench ) sobre a Composição Química da Silagem , Consumo , Produção e Teor de Gordura do Leite para Vacas em lactação , em Comparação à Silagem de Milho ( *Zea mays* ( L. )) Effect of the Sorg. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(6), 2086–2092. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000800018>.

Do Nascimento, W. G., Do Prado, I. N., Jobim, C. C., et al. (2008). Valor alimentício das silagens de milho e de sorgo e sua influência no desempenho de vacas leiteiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(5), 896–904. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000500018>.

dos Anjos, G. V. S., Gonçalves, L. C., Rodrigues, J. A. S., et al. (2018). Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *Journal of Dairy Science*, 1–8. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13687>.

Dunière, L., Sindou, J., Chaucheyras-durand, F., et al. (2013). Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*, 182(1–4), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.006>.

Filya, I., Sucu, E., Karabulut, A. (2006). The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(5), 353–358. <https://doi.org/10.1007/s10295-005-0074-z>.

Gerlach, K., Roß, F., Weiß, K., et al. (2013). Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats, *Agriculture and food science.*, 22: 168–181.

Heinritz, S. N., Martens, S. D., Avila, P., et al. (2012). The effect of inoculant and sucrose addition on the silage quality of tropical forage legumes with varying ensilability. *Animal Feed Science and Technology*, 174(3–4), 201–210. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.03.017>.

Herrmann, C., Heiermann, M., Idler, C. (2011). Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops. *Bioresource Technology*, 102(8), 5153–5161. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.012>.

Kristensen, N. B., Sloth, K. H., Højberg, O., et al. (2010). Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation , microbial contents , aerobic stability , and milk production under field conditions. *Journal of Dairy Science*, 93(8), 3764–3774. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3136>.

Kung, L., Shaver, R. D., Grant, R. J., et al. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*,

101(5), 4020–4033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>.

Lima, E. M. de, Gonçalves, L. C., Keller, K. M., et al. (2016). 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*, 257(September 2016), CJAS-2016-0005. <https://doi.org/10.1139/CJAS-2016-0005>.

Lindgren, S., G. Pahlow, and E. Oldenburg. 2002. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. *Multi-Function Grasslands*. J. L. Durand, J. C. Emile, C. Huyghe, and G. Lemaire, ed. Pages 503–511 in Proc. 19th General Meeting of the European Grassland Federation, La Rochelle, France.

Lowes, K. F., Shearman, C. A., Payne, J., et al. (2000). Prevention of yeast spoilage in feed and food by the yeast mycocin HMK. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3), 1066–1076. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.3.1066-1076.2000>.

Michel, P. H. F., Gonçalves, L. C., Rodrigues, J. A. S., et al. (2017). Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. *Grass and Forage Science*, 72(3), 432–440. <https://doi.org/10.1111/gfs.12253>.

Muck, R. E., L. Kung Jr. (1997). Effects of silage additives ensiling. Pages 187 – 199 in *Proc. Silage: Field to Feedbunk*. NRAES-99. Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service, Ithaca, NY. (1997), 1997.

Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(suppl spe), 183–191. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300021>.

Muck, R. E., Nadeau, E. M. G., McAllister, T. A., Contreras-Govea, F. E., Santos, M. C., & Kung, L. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3980–4000. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>.

Ott, L. C., Schafhäuser Junior, J., Luis, J., et al. (2018). Composição química e valor nutritivo da silagem de genótipos de sorgo - *Revista Eletrônica veterinária* <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> 2018 Volume 19 N° 5.

Souza, V.G.; Souza, V.G.; Pereira, O G.; et al. (2003). Nutritive Value of Sorghum Silages. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 753–759. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(98\)50104-0](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(98)50104-0).

United States Department of Agriculture (USDA). (2018). World Agricultural Production. *Circular Series*. <https://doi.org/10.1164/rccm.201411-1988OC>.

Vieira, F. A. P., Borges, I., Stehling, C. A. V., et al. (2004). Qualidade de silagens de sorgo com aditivos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 56(6), 764–772. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352004000600011>.

Weinberg, Z. G., Khanal, P., Yildiz, C., et al. (2011). Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. *Grassland Science*, 57(1), 46–50. <https://doi.org/10.1111/j.1744-697X.2010.00207.x>.

Wilkinson, J. M., Davies, D. R. (2013). The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, 68(1), 1–19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00891.x>.

Xing, L., Chen, L. J., & Han, L. J. (2009). The effect of an inoculant and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. *Bioresource Technology*, 100(1), 488–491. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.017>.

**O ARTIGO A SEGUIR ESTÁ NAS NORMAS DA REVISTA  
JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE AND  
BIOTECHNOLOGY**

## **Artigo – Reensilagem e uso de inoculante bacteriano na qualidade de silagem de sorgo.**

### **RESUMO**

**Introdução:** A ensilagem é o processo de conservação de forragens mais utilizado no Brasil. A especialização na produção de carne e leite aumentou a prática de reensilagem no Brasil e no mundo. A compra de silagem de fazendas especializadas na produção de volumoso é uma prática comum e frequente. No entanto, a falta de controle e de informações que normatizem essa prática ainda gera dúvidas nos produtores no momento da aquisição. Na realocação das silagens, ocorre a exposição aeróbica das silagens. A exposição permite o crescimento de microrganismos como leveduras e fungos que causam deterioração na silagem, e podem comprometer a qualidade e o valor nutritivo. Na busca por solucionar esse problema é cada vez mais frequente o uso de inoculantes microbianos no material verde, com objetivo de aumentar a estabilidade aeróbia dessas silagens. Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem após 48 horas e do uso de inoculante microbiano na qualidade de silagens de sorgo.

**Resultados:** As perdas de gases (+8%) e efluentes (+50%) foram maiores nas silagens reensiladas ( $P<0.05$ ). Assim, as perdas totais foram 17% maiores do que na silagem convencional. A reensilagem reduziu a estabilidade aeróbica das silagens ( $P<0.05$ ) em até 3.8 dias, e aumentou a contagem de fungos nas silagens com e sem inoculante,  $2.13 \times 10^5$  e  $4.16 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> de MN, respectivamente. O uso de inoculante reduziu em até 5% o pH das silagens ( $P<0.05$ ). A reensilagem aumentou em média 5.5% o pH das silagens ( $P<0.05$ ). As concentrações de N-NH<sub>3</sub>.NT<sup>-1</sup> também foram reduzidas nos tratamentos com inoculante (18.34%) e maiores na reensilagem (28.88%).

**Conclusões:** A reensilagem após 48 horas não prejudicou a qualidade de silagens de sorgo. A utilização de inoculantes nas silagens de sorgo reensiladas não melhorou a qualidade do material.

Palavras chave: *Propionibacterium acidipropionici*, *Lactobacillus plantarum*, aditivos, perda de matéria seca, reensilagem, realocação de silagem

## INTRODUÇÃO

A irregularidade das chuvas, o mal planejamento produtivo as perdas excessivas na produção, a área insuficiente para cultivo, a mão de obra não treinada, o maquinário inadequado para plantio e colheita, e o alto custo de produção [1–3] levam a ineficiência produtiva. A compra de silagens segue a tendência de profissionalização e especialização dos diferentes setores produtivos da pecuária de corte e leite.

Durante o processo de reensilagem é inevitável a exposição das silagens ao oxigênio, permitindo a proliferação de micro-organismos deterioradores da matéria seca, principalmente fungos, leveduras e bactérias acetogênicas. Se esta deterioração for intensa pode ocorrer perda no valor nutritivo das silagens [4].

Objetivando melhorar a estabilidade aeróbia e reduzir a deterioração de silagens expostas ao ar, vários aditivos químicos e microbiológicos são estudados. Os inoculantes disponíveis no mercado são compostos por bactéria heterofermentativa (gênero *Lactobacillus*) e espécies de *Propionibacterium*. Os *Lactobacillus* produzem ácido láctico, importantes na queda do pH e na manutenção da qualidade da silagem e os *Propionibacterium* reduzem a deterioração aeróbia das silagens [5].

Alguns trabalhos analisando a reensilagem já foram desenvolvidos [3,6,7]. As variáveis do processo produtivo de silagens de sorgo como novos híbridos, tempo de exposição ao ar e uso de aditivos para controlar as perdas do processo, devem ser estudados para melhorar a eficiência do processo de reensilagem e obter maiores lucros na venda.

A grande eficiência da cultura do sorgo na conversão de água e nutrientes absorvidos em foto-assimilados e esqueletos de carbono torna-o excepcionalmente interessante para as regiões de alta temperatura e com restrições pluviométricas. Desta forma, é uma forrageira mais adaptada a condições adversas do que outras culturas, como o milho. Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem após 48 horas e do uso de inoculante microbiano na qualidade de silagens de sorgo.

## MÉTODOS

### Plantio, colheita e ensilagem

O Híbrido de Sorgo BRS 658 foi cultivado em dezembro de 2014 no Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS) da EMBRAPA, localizado no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19° 28'S, longitude 44° 15'W e altitude de 732m). Foram plantados 5 canteiros, cada um com 2000m<sup>2</sup>. O espaço entre linhas de plantio foi de 70cm. Para adubação, utilizou-se 350 kg de 08-28-16 (N:P:K) + 0,5% Zn e após 30 dias foi feita cobertura com 200kg de ureia.

Após 101 dias de plantio, as plantas foram colhidas e cortadas em partículas de 1 a 2 cm com ensiladeira convencional (JF C120 AT; JF Máquinas Agrícolas, Itapira, Brasil). A forragem picada foi amostrada (1 amostra de 1000 g/bloco) para análises de composição (Tabela 1) antes do material ser inoculado.

O momento da colheita foi no estágio pastoso/farináceo (MS=29.56%) de maturação dos grãos (Tabela 1). Antes da colheita, a lavoura foi amostrada de forma aleatória colhendo-se as plantas em cinco amostras de cinco metros lineares. Contou-se o número de plantas e mediu-se a altura, as plantas foram pesadas e o resultado utilizado para cálculo de produtividade de massa verde. Foi observado em média 153 mil plantas/ha, 2.25 metros de altura média e produtividade de 12.71 toneladas de matéria seca/ha. Para cada amostra retirada no campo, seis plantas foram coletadas e os constituintes folha, colmo e panícula separados, pesados e processados em laboratório para determinação das proporções com base na matéria seca (MS). Obteve-se, em média, 14.16% de folha, 48.90% de colmo e 37.76 % de panícula.

Metade do material colhido em cada bloco foi pesado e inoculado; a outra metade foi pesada e água foi adicionada a uma taxa idêntica ao da silagem inoculada (200 mL por 100 kg de forragem fresca). A forragem foi manualmente compactada em silos experimentais à uma densidade média de 509,42 kg/m<sup>3</sup>.

Foram feitas cinco repetições para cada um dos tratamentos, totalizando 20 silos experimentais. Os silos foram feitos de baldes de plástico de 20 l equipados com uma válvula de Bunsen para permitir a liberação do gás de fermentação. Um saco de algodão foi colocado dentro de cada balde com aproximadamente 2.5 kg de areia seca para a medição do efluente.

## **Design Experimental**

Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial  $2 \times 2$ , com 5 repetições cada um (blocos). A primeira variável examinada foi o processo de reensilagem (com ou sem), e a segunda variável investigada foi o uso de inoculante (com ou sem). O inóculo compreendeu a bactéria heterofermentativa facultativa produtora de ácido láctico *L. plantarum* e a bactéria propiônica *P. acidipropionici* (Kera-Sil Grão Úmido, Kera Nutrição Animal, Rio Grande do Sul, Brasil). Numa concentração de  $2.64 \times 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> de matéria natural (MN). O inóculo foi diluído em água e foi uniformemente pulverizado sobre a forragem com um pulverizador costal e misturado com garfo. Então, o material foi ensilado.

O processo de reensilagem foi feita 56 dias depois da ensilagem. Os silos foram abertos, o material foi removido e depois reensilado após 48 horas de exposição ao ar. Este procedimento foi executado em um galpão coberto. A temperatura variou entre 18.6 e 26.3° C durante o período de exposição, e a umidade relativa média do ar foi de 81.6% (dados obtidos da estação meteorológica automática do Instituto Nacional de Meteorologia, 83587).

Todos os silos foram pesados e abertos 200 dias após o processo de reensilagem (256 dias de armazenamento total). Foram pesados também os sacos de areia com o resíduo. As amostras foram obtidas para análise de composição química, digestibilidade *in vitro*, qualidade da silagem (pH e N-NH<sub>3</sub>), perda de material (gás, efluente, e MS total), estabilidade aeróbica e contagem total de fungos, leveduras e bactérias aeróbicas.

## **Análises de Perdas**

Os pesos dos silos vazios com tampa e saco de areia seca foram registrados antes do processo de ensilagem. Os silos foram então preenchidos com forragem, compactados, tampados e vedados com fita adesiva e pesados novamente. Os silos submetidos ao procedimento de reensilagem foram abertos aos 56 dias e pesados antes e depois da remoção da forragem para determinar a produção de gases e efluentes. Amostra foi retirada para determinação do teor de matéria seca. A areia depositada no fundo de cada silo foi substituída, e o conjunto vazio foi pesado. Após a reensilagem os silos foram pesados cheios.

No momento da abertura dos silos, todos foram pesados cheios para determinação das perdas por gases com a seguinte fórmula:

$$G(\%MS) = \left( \frac{((PCen - Pen) \times MSen) - ((PCab - Pen) \times Msab)}{(Pcen - Pen) \times Msen} \right) \times 100$$

Em que, G é a perda por gases em (% MS); PCen é o peso do balde cheio na ensilagem (kg); Pen é o peso do conjunto (balde vazio + tampa + areia seca + saco) na ensilagem (kg); MSen é o teor de MS da forragem na ensilagem (%); PCab é o peso do balde cheio na abertura (kg); MSab é o teor de MS da forragem na abertura (%).

Em seguida, os silos foram abertos, a silagem retirada, amostrada e o conjunto pesado. Dessa forma, efetuou-se a quantificação do efluente produzido, conforme a fórmula:

$$PE = \frac{((Pef) \times 1000)}{MVi}$$

Em que, PE é perdas por efluente (kg/t de MV); Pef é o peso de efluente (peso do conjunto vazio após a abertura – peso do conjunto vazio antes do enchimento); MVi é a quantidade de massa verde de forragem ensilada (kg).

A perda total de matéria seca foi estimada pela diferença entre o peso bruto de massa seca inicial e final dos silos experimentais em relação à quantidade de massa seca ensilada, descontados o peso do conjunto na ensilagem e na abertura, conforme a equação:

$$PMS = \left( \frac{((PCen - Pen) \times MSen) - ((PCab - Pab) \times Msab)}{(Pcen - Pen) \times Msen} \right) \times 100$$

Em que, PMS é a perda total de MS (%); PCen é o peso do balde cheio na ensilagem (kg); Pen é o peso do conjunto (balde + tampa + areia seca + saco) na ensilagem (kg); MSen é o teor de MS da forragem na ensilagem (%); PCab é o peso do balde cheio na abertura (kg); Pab é o peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura (kg); MSab é o teor de MS da forragem na abertura (%).

A metodologia utilizada nesse trabalho para análise de perdas foi descrita por Jobim et al. [8] e aplicadas em silagens de sorgo por Michel et al. e dos Anjos et al. [3,7]. As perdas por gases e por efluentes bem como as perdas totais de matéria seca das silagens

reensiladas, foram obtidas pela soma das perdas ocorridas durante a abertura para a desensilagem e a abertura final.

No momento da abertura final dos silos experimentais, as amostras foram retiradas para as análises de parâmetros de qualidade das silagens, da composição bromatológica, da estabilidade aeróbia e para a contagem de fungos, leveduras e bactérias.

### **Análises de qualidade das silagens**

Com auxílio de uma prensa hidráulica foi extraído de cada amostra de silagem 150 ml de suco. Este foi utilizado para determinação do pH, utilizando-se um medidor de pH digital (modelo HI 2210), e o conteúdo de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), pelo método Kjeldahl [12].

### **Avaliação da estabilidade aeróbia das silagens**

A avaliação da estabilidade aeróbia das silagens foi realizada colocando-se baldes plásticos (23 cm de altura e 66 cm de circunferência) contendo 1.5 kg de silagem em uma sala climatizada com temperatura constante de 25°C. Os baldes foram cobertos com papel alumínio permitindo que o ar entrasse em contato com a silagem. A temperatura das silagens foi mensurada utilizando-se um termômetro de mercúrio (Termômetro analógico para Estufas; MODELO: TAE-110) inserido a 10 cm no centro da massa de silagem. A estabilidade aeróbia das silagens foi determinada por meio do tempo (h) necessário para a elevação da temperatura das silagens em 2°C em relação a temperatura ambiente (°C) [9]. Além disso, 1.5 kg de silagem foram colocados em outro conjunto de baldes para rastrear mudanças na flora microbiana. Os microrganismos foram contados em amostras de silagem no dia zero (d0) e quando elas perderam a estabilidade aeróbica. Considerou-se que a perda da estabilidade aeróbica foi quando a temperatura do material estava 2°C acima da temperatura ambiente [10]. As silagens que permaneceram estáveis foram coletadas no dia dez (d10).

### **Análises microbiológicas**

A análise microbiológica das amostras consistiu no preparo de uma diluição prévia, pesando 25 g de silagem que foram adicionados em um frasco contendo 225 mL de

solução peptonada (0.1%) estéril. Este frasco foi agitado por 5 minutos e permaneceu em repouso por 1 minuto. Em seguida, retirou-se 1 mL do extrato para as diluições em série ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ), realizadas em tubos de ensaio contendo solução peptonada 0.1%. De cada diluição foi retirado 0.1 ml que foi semeado em placas de Petri contendo o meio Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol (DRBC) para contagem total, que foi realizada após 144 e 168 horas de incubação a 2°C. Para a contagem de bactérias o material foi plaqueado em meio Ágar Contagem Padrão (PCA) e a contagem foi realizada após 24 e 48 horas de incubação a 37°C [11]. Para a contagem de leveduras o material foi plaqueado em meio Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar (TGY), e a contagem foi realizada após 24, 48 e 72 horas de incubação a 30°C.

### **Composição química, digestibilidade *in vitro* e recuperação de matéria seca.**

As amostras de silagens foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e moídas a 1mm em moinhos (Thomas Modelo 4 Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ). Após este processo, as amostras foram analisadas quanto ao conteúdo de matéria seca em estufa a 105°C [12] método ID 934.01. O conteúdo de proteína bruta (PB) foi mensurado através da determinação da concentração de N total, pelo método Kjeldahl [12] método ID 990.03, onde PB foi calculada como o valor de N x 6.25. Fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) foram determinadas pelo método sequencial, utilizando-se os procedimentos descritos por [13]. Na análise da FDN foi utilizado a  $\alpha$ -amilase termoestável. O extrato etéreo (EE) foi determinado pelo processo Soxlet [14]. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi realizada segundo procedimento descrito por Tilley e Terry e adaptado por Holden [15] com a utilização do simulador de rúmen DaisyII (Ankom Technology, Macedon, NY, EUA).

### **Análise estatística**

Os resultados foram submetidos à análise estatística em esquema fatorial 2 x 2 em blocos ao acaso com cinco repetições. Foi utilizando o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + I_j + N_{ij} + B_k + e_{ijk}, \text{ em que:}$$

$Y_{ijk}$  = valor referente à observação no fator reensilagem  $i$  com o fator inoculante  $j$  no bloco  $k$ ;

$\mu$  = média geral;

$R_i$  = efeito do nível  $i$  do fator reensilagem (0 ou 24 horas);

$I_j$  = efeito do nível  $j$  do fator inoculante (com ou sem aplicação);

$N_{ij}$  = efeito da interação reensilagem e inoculante;

$B_k$  = efeito do bloco  $k$  (1, 2, 3, 4, 5);

$e_{ijk}$  = erro aleatório associado à observação.

As médias foram submetidas à análise de interação utilizando o procedimento GLM do programa estatístico SAS (SAS Institute, 1985) e caso significativa foi desdobrada. Em casos de interação não significativa, os fatores foram comparados separadamente pelo teste de F a 5% de significância. As variáveis foram correlacionadas pela análise de Pearson, a 5% de probabilidade de erro pelo Teste t.

## RESULTADOS

O teor de matéria seca observado na planta antes da ensilagem e da aplicação do inoculante microbiano (Tabela 1) se encontra dentro dos valores indicados na literatura brasileira para obtenção de silagem de sorgo de boa qualidade, entre 25 e 35% [16].

O uso de inoculante microbiano e reensilagem não apresentou interação para nenhuma das variáveis dependentes estudadas ( $P > 0,05$ ). O inoculante reduziu a MM em 7% ( $P < 0,05$ ), quando comparado com silagens sem inoculante (Tabela 2).

A perda de gases na silagem reensilada foi 8% maior que na silagem controle. A reensilagem aumentou as perdas por efluentes em 62% para silagens sem inoculante e 53% para silagens com inoculante. O inoculante aumentou a perda por efluentes ( $P < 0,05$ ) em 9% para silagem convencional e 2.8% para a silagem reensilada. Não houve interação entre os fatores reensilagem e inoculante ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). As perdas por gases, efluentes e totais na ensilagem foram maiores nas silagens reensiladas ( $P < 0,05$ ).

As variáveis de qualidade da silagem são apresentados na tabela 4. O uso de inoculante reduziu o pH da silagem ( $P < 0,05$ ) em 5% para silagens convencionais e 3%, para silagens reensiladas. A reensilagem aumentou o pH das silagens ( $P < 0,05$ ) em 4.4% e 6.6% para silagens sem e com inoculante. No entanto, todas as silagens apresentaram valores de pH satisfatórios [17]. Não houve interação entre os fatores reensilagem e inoculante ( $P < 0,05$ ) para as variáveis de qualidade.

As concentrações de  $N-NH_3.NT^{-1}$  total apresentaram o mesmo comportamento do pH. A reensilagem aumentou as concentrações de  $N-NH_3.NT^{-1}$  em 19.75% e 38%, nas

silagens sem e com inoculante, e o inoculante reduziu em 23.88% e 12.8% para silagem convencional e reensilada, respectivamente. Todas as silagens avaliadas tiveram valores satisfatórios de pH e  $N-NH_3.NT^{-1}$  [17].

A reensilagem diminuiu o tempo de estabilidade da silagem ( $P<0.05$ ), em até 3.8 dias (Tabela 5). As silagens ensiladas sem inoculante e com inoculante para leveduras e fungos e a silagem reensilada com inoculante para levedura não apresentaram população suficiente para contagem ( $<10$ ) na abertura do silo. A silagem reensilada sem inoculante teve contagem para leveduras de  $1.11 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> de MN. Foi possível contar as UFC de fungos do material reensilado, o que indica uma população maior em silagens reensiladas. O uso de inoculante na reensilagem reduziu 12% o número de leveduras no momento da perda da estabilidade ( $P<0.05$ ). As outras variáveis dependentes estudadas não foram significativas ( $P<0.05$ ).

## DISCUSSÃO

A combinação de inoculantes no momento da ensilagem é avaliada há algumas décadas. A forma mais comum de inoculação é a utilização de bactérias ácido lácticas, que por meio da produção de ácido láctico ( $pka=3.86$ ) levam a queda mais rápida do pH das silagens inoculadas [18]. No entanto, o ácido láctico e os carboidratos solúveis são substratos para fungos [19]. A alta concentração desses nutrientes pode acelerar a deterioração aeróbica durante a exposição ao ar [20].

Não houve interação entre inoculante e reensilagem na composição química das silagens avaliadas ( $P<0.05$ ). A MM foi menor nas silagens inoculadas ( $P<0.05$ ), essa diferença não tem impacto significativo na dieta total dos animais.

O pH das silagens inoculadas foi menor que o pH da silagem controle ( $P<0.05$ ) (Tabela 4), o que pode significar uma maior eficiência na proliferação de bactérias ácido lácticas no início da fermentação. No entanto, na metanálise de Oliveira et al. [21] com silagens inoculadas ( $n=236$ ) a inoculação não interferiu no pH das silagens. O pH e o  $N-NH_3.NT^{-1}$  foram maiores nas silagens reensiladas ( $P<0.05$ ). O pH foi maior 4.4% para as silagens sem inoculante e 6.6% para as silagens com inoculante e 19.75% para as silagens sem inoculante e 38% para as silagens com inoculante para  $N-NH_3.NT^{-1}$ . Durante a exposição aeróbica ocorre a elevação do pH da silagem [3,7].

O nitrogênio amoniacal foi significativamente menor em silagens inoculadas ( $P<0.05$ ), os valores foram em média 18% menores do que em silagens não inoculadas,

indicando que a inoculação reduz a proteólise. Oliveira et al. [21] também observaram que o inoculante reduz a concentração de  $N-NH_3.NT^{-1}$  (n=134).

Na reensilagem, as silagens são expostas ao oxigênio o que possibilita o crescimento de organismos deterioradores [6]. Os ácidos orgânicos produzidos na fermentação, em especial o ácido láctico, são utilizados como substrato e o pH da silagem aumenta.

Uma vez que o pH se eleva, grande variedade de micro-organismos aeróbicos podem crescer, deteriorando a silagem e aumentando a temperatura [22]. As leveduras são os primeiros micro-organismos a se desenvolverem uma vez que a silagem entra em contato com o oxigênio [22].

As perdas de matéria seca por gases e totais (Tabela 3) foram significativamente maiores nas silagens reensiladas ( $P<0.05$ ) e as perdas por efluentes foram altamente significantes nas silagens reensiladas ( $P<0.01$ ). Em outros trabalhos [2,7], a reensilagem também apresentou maiores perdas. Esse comportamento pode ser relacionado ao duplo processo de compactação executado no material, o que influi principalmente nas perdas de efluentes. A compactação permite a remoção de água das células da planta e promove maior produção de efluentes [3]. A inoculação aumentou a perda por efluentes ( $P<0.05$ ), sem alterar as perdas totais de MS.

É importante lembrar que todas essas perdas ocorrem na parte mais digestível da silagem [23]. Essas perdas por deterioração podem ser prevenidas evitando a entrada de ar no silo durante a fermentação e minimizando a exposição das silagens ao oxigênio após abertura do silo.

Nesse trabalho, a contagem de leveduras no momento da abertura foi inferior a  $100 \text{ UFC.g}^{-1}$  de MN nas silagens controle, com inoculante e com inoculante reensilada. Apenas a silagem reensilada sem inoculantes apresentou contagem de leveduras ( $1.11 \times 10^3 \text{ UFC.g}^{-1}$  de MN), o que pode ser explicado pelo pH (4,27) mais elevado apresentado nessa silagem. As altas concentrações de  $H^+$  reduzem o crescimento das leveduras [24]. O controle de leveduras até a abertura do silo foi eficiente [20] para as silagens estudadas.

Os fungos filamentosos são aeróbicos estritos e quando encontrados na silagem estão nas extremidades do silo mais próximos do local de abertura [18,25,26], e raramente são vistos na planta verde. Chen e Weinberg [6] visualizaram fungos filamentosos quando a contagem foi superior a  $3.98 \times 10^6 \text{ UFC.g}^{-1}$  de MN. Esses micro-organismos crescem mais lentamente em relação a outros micro-organismos das silagens e, apesar de

crecerem em vários substratos, só aparecem depois que as silagens já foram deteriorada por leveduras e outras bactérias [18].

As contagens de fungos filamentosos nas silagens reensiladas com inoculante foram de  $2.13 \times 10^5$  e na reensilada sem inoculante de  $4.16 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> de MN, enquanto nas silagens convencionais (<10 UFC.g<sup>-1</sup> de MN). Essa resposta pode ser explicada pela exposição ao ar por 48 horas das silagens reensiladas, o que favoreceu o crescimento desses fungos.

A maior contagem de fungos nas silagens reensiladas acelerou o processo de deterioração e reduziu o tempo de estabilidade dessas silagens, quando comparado com as silagens convencionais (P<0.05), o inoculante não interferiu nessa variável. As contagens de micro-organismos no momento da perda da estabilidade foram maiores na silagem reensilada para fungos filamentosos (P<0.05).

A quantidade de leveduras e fungos presentes na silagem são importantes para a manutenção da qualidade após a abertura. Mahanna e Chase [20] descrevem que as silagens de boa qualidade tem contagens inferiores  $1.0 \times 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> de MN para bactérias, leveduras e fungos. Neste trabalho (Tabela5), apenas as silagens reensilada sem inoculante obtiveram valores de bactérias superiores ao proposto por Mahanna e Chase [20], mas não apresentou diferença com os demais tratamentos (P<0.05).

As silagens que perderam a estabilidade aeróbica mais rápido tiveram uma maior taxa de crescimento de fungos. Assim, o fornecimento aos animais das silagens reensiladas deve ser mais rápido do que o das silagens convencionais. A taxa de desabastecimento diária do silo ou avanço do painel ideal é de recomendação de avanço diário do painel do silo é de 20 cm. Esta recomendação parte do pressuposto que em um silo bem compactado o ar penetra um metro no painel e que a perda da estabilidade aeróbica de boas silagens começa a partir do quinto dia [27]. Assim, em cinco dias o metro que foi exposto ao ar será utilizado. O tempo de perda de estabilidade desse trabalho foi maior que cinco dias para todas as silagens.

O pH menor que 4.2, o N-NH<sub>3</sub>.NT<sup>-1</sup> menor que 10% do nitrogênio total [17] e a contagem de micro-organismos menor que  $1.0 \times 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> de MN [20] indicam que todas as silagens estudadas apresentam boa qualidade.

## CONCLUSÃO

A reensilagem após 48 horas não prejudicou a qualidade de silagens de sorgo. No entanto, a reensilagem após 48 horas do material exposto ao ar aumentou as perdas de matéria seca, mas não alterou o valor nutricional. A utilização de inoculantes nas silagens de sorgo reensiladas não melhorou a qualidade do material.

## ABREVIÇÕES

CNF = Carboidratos Não Fibrosos; DIVMS = Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca; DRBC = Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar; EE = Extrato Etéreo; EPM = Erro Padrão da Média; FDA = Fibra em Detergente Ácido; FDAcp = Fibra em detergente Ácido corrigida pra cinzas e proteína; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDNcp = Fibra em Detergente Neutro corrigida pra cinzas e proteína; INMET = Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil; LP = *Lactobacillus plantarum*; MS = Matéria Seca; MSab = Teor de matéria seca da forragem na abertura; MSen = Teor de matéria seca da forragem na ensilagem; MVi = Massa verde de forragem ensilada; N = Nitrogênio; NH<sub>3</sub> = Nitrogênio Amoniacal; NPK = Nitrogênio, Fósforo, Potássio; NS = Não Significativo; NT = Nitrogênio Total; PA = *Propionibacterium acidipropionici*; Pab = Peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura; PB = Proteína Bruta; PCA = Ágar Contagem Padrão; PCab = Peso do balde cheio na abertura; PCen = Peso do balde cheio na ensilagem; PE = Perdas por efluente; Pef = Peso de efluente; Pen = Peso do conjunto (balde vazio + tampa + areia seca + saco) na ensilagem; PIDA = Proteína Insolúvel em Detergente Ácido; PIDN = Proteína Insolúvel em Detergente Neutro; RE = Reensilagem; SIL = Silagem.

## REFERÊNCIAS

1. Lima EM de, Gonçalves LC, Keller KM, Rodrigues JA dos S, Santos FPC, Michel PHF, 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. *Can J Anim Sci* [Internet]. 2016;257:CJAS-2016-0005. Available from: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/CJAS-2016-0005>
2. Coelho MM, Gonçalves LC, Rodrigues JAS, Keller KM, dos Anjos GVS, Ottoni D, et al. Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant | Características químicas, estabilidade aeróbia e contagem microbiológica de silagens de milho reensiladas com inoculante bacterian. *Pesqui Agropecu Bras*. 2018;53:1045–52.
3. Michel PHF, Gonçalves LC, Rodrigues JAS, Keller KM, Raposo VS, Lima EM, et al. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. *Grass Forage Sci*. 2017;72:432–40.

4. Muck RE, Nadeau EMG, McAllister TA, Contreras-Govea FE, Santos MC, Kung L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2018;101:3980–4000. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218303229>
5. Filya I, Sucu E, Karabulut A. The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2006;33:353–8.
6. Chen Y, Weinberg ZG. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2014;97:406–10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203021300756X>
7. dos Anjos GVS, Gonçalves LC, Rodrigues JAS, Keller KM, Coelho MM, Michel PHF, et al. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2018;1–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218302819>
8. JOBIM CC, NUSSIO LG, REIS RA, SCHMIDT P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada Methodological advances in evaluation. *Rev Bras Zootec*. 2007;101–19.
9. McEniry J, O’Kiely P, Clipson NJW, Forristal PD, Doyle EM. The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass Forage Sci*. 2007;62:470–84.
10. Ranjit NK, Kung L. The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. *J Dairy Sci* [Internet]. 2000;83:526–35. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030200749125>
11. Pitt, J. I., and A. D. Hocking. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. 3rd ed. Springer, New York, NY.
12. AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. Vol. 1. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. 1990;1:1990.
13. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*. 1991;74:3583–97.
14. AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. AOAC, Arlington, VA..pdf.
15. Holden, L. A. 1999. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci*. 82:1791 – 1794. 1999;1999.
16. Pires, A. J. V.; Reis, R. A.; Carvalho, G. G. P. D.; Siqueira, G. R.; Bernardes, T. F.; Ruggieri, A. C.; Almeida, E. D. O.; Roth, M. D. T. P.; Degradabilidade ruminal da matéria seca, da fração fibrosa e da proteína bruta de forrageiras. *Pesquisa Agropecu*. 2006;2006.
17. Tomich TR, Pereira LGR, Gonçalves LC, Tomich RGP, Borges I. Características Químicas para Avaliação do Processo Fermentativo de Silagens: uma Proposta para Qualificação da Fermentação. *Documentos* [Internet]. 2003;57:20. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030200749125>

18. Muck RE. Silage microbiology and its control through additives. *Rev Bras Zootec* [Internet]. 2010;39:183–91. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982010001300021&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010001300021&lng=en&tlng=en)
19. Woolford MK. The detrimental effects of air on silage. *J Appl Microbiol*. 1990;68:101–16.
20. Buxton DR, Muck RE, Harrison JH, Mahanna B, Chase LE. Practical Applications and Solutions to Silage Problems. 2003; Available from: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/books/abstracts/agronomymonogra/silagesciencian/855>
21. Oliveira AS, Weinberg ZG, Ogunade IM, Cervantes AAP, Arriola KG, Jiang Y, et al. 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. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2017;100:4587–603. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217302515>
22. Buxton DR, Muck RE, Harrison JH, Pahlow G, Muck RE, Driehuis F, et al. Microbiology of Ensiling. 2003; Available from: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/books/abstracts/agronomymonogra/silagesciencian/31>
23. Dolci P, Tabacco E, Cocolin L, Borreani G. Microbial Dynamics during Aerobic Exposure of Corn Silage Stored under Oxygen Barrier or Polyethylene Films □. 2011;77:7499–507.
24. Lowes KF, Shearman CA, Payne J, MacKenzie D, Archer DB, Merry RJ, et al. Prevention of yeast spoilage in feed and food by the yeast mycocin HMK. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66:1066–76.
25. Dunière L, Sindou J, Chaucheyras-durand F, Chevallier I. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Anim Feed Sci Technol* [Internet]. Elsevier B.V.; 2013;182:1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.006>
26. Bumbieris Junior VH, Guimarães VA de Pietro, Fortaleza AP de S, Massaro Junior FL, Moraes GJ de, Meza DAR. Aerobic stability in corn silage (*Zea mays*L. ) ensiled with different microbial additives. *Acta sci, Anim sci* [Internet]. 2017;39:357–62. Available from: <http://www.uem.br/acta%0Ahttp://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/34426/pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i4.34426>
27. Muck RE, Huhnke RL. Oxygen infiltration from horizontal silo unloading practices. *Trans ASAE*. 1995;38:23–31.

## TABELAS

**Tabela 1.** Composição química das plantas de sorgo utilizadas na ensilagem em g.kg<sup>-1</sup> de MS

| MS    | FDN   | FDA   | PB   | EE   | Cinzas |
|-------|-------|-------|------|------|--------|
| 298.6 | 631.1 | 360.8 | 72.9 | 32.8 | 37.9   |

MS, matéria seca; FDN, fibra insolúvel em detergente neutro; FDA, fibra insolúvel em detergente ácido; PB, proteína bruta; EE, extrato etéreo.

**Tabela 2.** Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens de sorgo reensiladas com inoculante.

| Parâmetros<br>g.kg <sup>-1</sup> MS | Controle |            | Com Inoculante |            | EPM    | Valor p |    |       |
|-------------------------------------|----------|------------|----------------|------------|--------|---------|----|-------|
|                                     | Ensilado | Reensilado | Ensilado       | Reensilado |        | I       | R  | I x R |
| MS                                  | 275.4    | 287.1      | 284.1          | 292.4      | 0.0031 | NS      | NS | NS    |
| MM                                  | 36.4     | 36.2       | 35.6           | 31.9       | 0.0006 | *       | NS | NR    |
| PB                                  | 71.5     | 68.1       | 74.3           | 72.2       | 0.0009 | NS      | NS | NS    |
| PIDN                                | 16.05    | 18.34      | 16.76          | 17.16      | 0.0005 | NS      | NS | NS    |
| PIDA                                | 13.05    | 14.60      | 13.00          | 15.06      | 0.0005 | NS      | NS | NS    |
| EE                                  | 35.6     | 39.87      | 36.15          | 36.76      | 0.0012 | NS      | NS | NS    |
| FDN                                 | 554.5    | 549.6      | 565.9          | 563.3      | 0.0050 | NS      | NS | NS    |
| FDNcp                               | 515.8    | 506.5      | 528.9          | 519.2      | 0.0050 | NS      | NS | NS    |
| FDA                                 | 330.7    | 333.7      | 337.6          | 343.1      | 0.0040 | NS      | NS | NS    |
| FDACP                               | 306.4    | 303.6      | 308.3          | 315.0      | 0.0004 | NS      | NS | NS    |
| Lignina                             | 72.7     | 76.9       | 75.9           | 77.4       | 0.0010 | NS      | NS | NS    |
| CNF                                 | 338.7    | 347.1      | 322.6          | 345.8      | 0.0050 | NS      | NS | NS    |
| DIVMS                               | 509.3    | 484.0      | 473.7          | 489.2      | 0.0060 | NS      | NS | NS    |

MS, matéria seca; MM, matéria mineral; PB, proteína bruta; PIDN, proteína indigestível em detergente neutro; PIDA, proteína indigestível em detergente ácido; EE, extrato etéreo; FDN, fibra em detergente neutro; FDNcp, FDN corrigida para cinzas e proteína; FDA, fibra em detergente ácido; FDACP, FDA corrigida para cinzas e proteína; CNF, carboidratos não fibrosos; DIVMS, digestibilidade *in vitro* da matéria seca. EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de interação; \*, P<0.05%; NS, não significativo.

**Tabela 3.** Perda de matéria seca por gases, efluentes e totais das silagens de sorgo reensiladas com inoculante.

| Parâmetros         | Controle |            | Com Inoculante |            | EPM  | Valor p |    |     |
|--------------------|----------|------------|----------------|------------|------|---------|----|-----|
|                    | Ensilado | Reensilado | Ensilado       | Reensilado |      | I       | R  | IxR |
| Gases (%)          | 9.57     | 10.36      | 9.11           | 9.90       | 0.17 | NS      | *  | NS  |
| Efluentes (kg/ton) | 19.53    | 31.58      | 21.28          | 32.47      | 1.39 | *       | ** | NS  |
| Total (%)          | 12.23    | 14.61      | 12.01          | 14.77      | 0.37 | NS      | ** | NS  |

EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de interação; \*,  $P < 0.05\%$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; NS, não significativo.

**Tabela 4.** pH e  $N-NH_3.NT^{-1}$  das silagens de sorgo reensiladas com inoculante.

| Parâmetros                             | Controle |            | Com Inoculante |            | EPM   | Valor p |   |     |
|--|----------|------------|----------------|------------|-------|---------|---|-----|
|  | Ensilado | Reensilado | Ensilado       | Reensilado |       | I       | R | IxR |
| pH                                     | 4.09     | 4.27       | 3.89           | 4.15       | 0.044 | *       | * | NS  |
| $N-NH_3.NT^{-1}$ (g.kg <sup>-1</sup> ) | 65.3     | 78.2       | 49.7           | 68.6       | 0.003 | *       | * | NS  |

$N-NH_3.NT^{-1}$ , Nitrogênio amoniacal/Nitrogênio total; EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de interação; \*,  $P < 0.05\%$ ; NS, não significativo.

**Tabela 5.** Contagem de leveduras, fungos e bactérias, e estabilidade aeróbica de silagens de sorgo reensiladas com inoculante.

| Parâmetros                         | Controle             |                      | Com Inoculante       |                      | EPM                  | Valor-p |    |       |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------|----|-------|
|                                    | Ensilado             | Reensilado           | Ensilado             | Reensilado           |                      | I       | R  | I x R |
| Estabilidade aeróbica <sup>1</sup> | 9.08                 | 7.60                 | 9.20                 | 5.38                 | 10.85                | NS      | *  | NS    |
| Bactéria <sup>2</sup>              | 5.02x10 <sup>4</sup> | 3.69x10 <sup>5</sup> | 1.64x10 <sup>5</sup> | 9.83x10 <sup>4</sup> | 4.97x10 <sup>4</sup> | NS      | *  | NS    |
| Levedura <sup>2</sup>              | <10                  | 1.11x10 <sup>3</sup> | <10                  | <10                  | -                    | -       | -  | -     |
| Fungos <sup>2</sup>                | <10                  | 4.16x10 <sup>3</sup> | <10                  | 2.13x10 <sup>5</sup> | -                    | -       | -  | -     |
| Bactéria <sup>3</sup>              | 9.46x10 <sup>7</sup> | 3.99x10 <sup>8</sup> | 7.81x10 <sup>7</sup> | 1.04x10 <sup>9</sup> | 1.64x10 <sup>8</sup> | NS      | NS | NS    |
| Levedura <sup>3</sup>              | 4.03x10 <sup>6</sup> | 4.76x10 <sup>8</sup> | 6.36x10 <sup>7</sup> | 5.59x10 <sup>7</sup> | 1.05x10 <sup>8</sup> | NS      | NS | *     |
| Fungos <sup>3</sup>                | 5.27x10 <sup>6</sup> | 3.18x10 <sup>7</sup> | 1.24x10 <sup>7</sup> | 1.06x10 <sup>7</sup> | 7.3x10 <sup>6</sup>  | NS      | *  | NS    |

<sup>1</sup> dias; <sup>2</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de MN na abertura da silagem; <sup>3</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de MN após perder a estabilidade. EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de interação; \*, P<0.05%; NS, não significativo.