

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA**

Colegiado de Pós-Graduação em Zootecnia

**VALOR NUTRITIVO, ESTABILIDADE AERÓBICA E CONTAGENS
MICROBIOLÓGICAS EM SILAGEM DE MILHO ENSILADAS EM ATÉ 24
HORAS APÓS COLHEITA**

PAMELLA GROSSI DE SOUSA

**BELO HORIZONTE-MG
ESCOLA DE VETERINÁRIA-UFMG
2020**

Pamella Grossi de Sousa

**VALOR NUTRITIVO, ESTABILIDADE AERÓBICA E CONTAGENS
MICROBIOLÓGICAS EM SILAGEM DE MILHO ENSILADAS EM ATÉ 24
HORAS APÓS COLHEITA**

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

Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme.

Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária - UFMG
2020

S729v Sousa, Pamella Grossi de - 1996
Valor nutritivo, estabilidade aeróbica e contagens microbiológicas em silagens de milho ensiladas em até 24 horas/ Pamella Grossi de Sousa – 2020.

44p.: il.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

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

1 – Silagem - Teses - 2 - Qualidade - Teses - 3- Nutrição animal - 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



Escola de Veterinária
UFMG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE: (31) - 3409 2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao
E-mail: cpgzootec@vet.ufmg.br

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE PAMELLA GROSSI DE SOUSA

Às 08:00h do dia 26 de fevereiro de 2020, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Comissão Examinadora de Dissertação, indicada pelo Colegiado na reunião do dia 06/02/2020 para julgar, em exame final, a defesa da dissertação intitulada.

Valor nutricional, estabilidade aeróbia e contagem microbiana em silagem de milho ensilada em até 24 horas após a colheita

como requisito final para a obtenção do Grau de **Mestre em Zootecnia, área de Concentração em Nutrição Animal.**

Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Diogo Gonzaga Jayme, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Dissertação, passou a palavra ao candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da dissertação, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof. (a)/Dr.(a) <u>DIOGO GONZAGA JAYME</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a)/Dr.(a) <u>CRISTIANO GONZAGA JAYME</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) <u>Lucio Carlos Gonçalves</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)

Reprovado (a)

Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá entregar 08 volumes encadernados da versão final da dissertação, acatando, se houver as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com um exemplar da dissertação apresentada para defesa.

Belo Horizonte, 11 de fevereiro de 2020.

Assinatura dos membros da banca:

Lucio Carlos Gonçalves

(Normas Regulamentares da defesa de dissertação no verso)

(Este documento não terá validade sem assinatura e carimbo do Coordenador)

Mestrado/Atadefesa.doc

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Rosineli Grossi, Avelino Ilário de Sousa e minha avó Antônia Alves Grossi, que além de acreditar e apoiar os meus sonhos, nunca mediram esforços para que eu pudesse alcançá-los.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por iluminar meus passos ao longo dessa trajetória, me mantendo sempre forte diante das adversidades e por todas as oportunidades e conquistas alcançadas;

A minha mãe Rosineli, meu pai Avelino, minha avó Antônia e ao meu irmão Murilo, por todo carinho, paciência, incentivo, preocupação, apoio e amor oferecidos a mim;

Ao meu orientador Diogo Gonzaga Jayme, pela oportunidade, pela confiança, pela amizade e pelos conhecimentos transmitidos;

Ao professor Lúcio Carlos Gonçalves, pela atenção, orientação e pelos grandes ensinamentos;

Ao professor Cristiano Gonzaga Jayme, não só por aceitar participar da minha banca, mas também pelo apoio e exemplo ao longo de todos esses anos, pelo incentivo desde o curso técnico, pelas horas de conversa e pela amizade;

A professora Roseane e as funcionárias, Elaine e Lud, do Laboratório de Microbiologia Industrial da Faculdade de Farmácia, pela paciência e dedicação na realização das análises microbiológicas;

A funcionária do LabNutri, Gabriela, pela ajuda na execução das análises;

Aos amigos Alan, Fred, Daniel e Rafael por toda ajuda durante a fase experimental, em especial ao Guilherme por me apoiar durante todo esse tempo. Sem vocês eu não teria chegado até aqui;

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

Ao Matheus, por ser companheiro em todos os momentos, pela paciência, pelo carinho e pela ajuda durante esses anos;

Aos grandes amigos Amanda, Dani, Helo, João, Letícia e Tainá pela amizade, carinho e companheirismo;

À Escola de Veterinária da UFMG, por proporcionar um ensino de grande qualidade e pelo acolhimento durante esse período;

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

E a todos que de algum modo, me incentivaram e me acompanharam nessa jornada, meu sincero agradecimento. Obrigada!

EPÍGRAFE

“Não se contente em trilhar um caminho estabelecido. Ao contrário, vá para onde não há caminho e deixe seu rastro.”

(Johnnie Walker)

RESUMO

O comércio de lavouras para confecção de silagem é uma prática crescente no Brasil e no mundo devido as dificuldades enfrentadas pelos pecuaristas para produzir em sua propriedade. Nessa prática, o material é picado, transportado e ensilado em outra fazenda. Durante o processo, o material fica exposto ao ar até ser ensilado. Isto pode resultar em perdas de valor nutricional e da qualidade do material, devido a respiração prolongada e ação de enzimas da planta, além do crescimento de microrganismos indesejáveis. Objetivou-se avaliar o efeito da ensilagem em até 24 horas após a colheita sobre as características químicas, microbiológicas e estabilidade aeróbia da silagem de milho. Os tratamentos foram a exposição aeróbia por 0, 6, 12 ou 24 horas e logo após a exposição a planta de milho verde picada foi armazenada em mini silos experimentais. Foram avaliadas a composição química, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), a contagem de microrganismos, perdas de matéria seca e a estabilidade aeróbia do material. Os dados foram analisados em delineamento inteiramente ao acaso e as diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0.05$. Antes da ensilagem, ocorreu um aumento de até 15°C na temperatura do material exposto ao ar em relação ao controle. A exposição, reduziu os teores de MS em 5,5%, de CNF em 13,5% e aumentou os teores de EE em 39,2%, de PB em 6,3%, de FDN em 6,4% e de FDA em 13%. Além disso, reduziu 7% na DIVMS. Quanto à qualidade fermentativa, a exposição aeróbia aumentou 3,5% no valor de pH e 18,8% no teor de N-NH₃/NT. Em relação a contagem microbiológica após a abertura do silo, houve um aumento de 19,4% na contagem de leveduras e de 25,9% na contagem de bactérias totais. Já a contagem de fungos, não foi influenciada pela exposição. Porém, após a quebra da estabilidade aeróbia, a contagem de leveduras, fungos e bactérias não foram influenciadas pela exposição. A exposição ao ar, aumentou 36,7% as perdas por gases e reduziu 30,4% as perdas por efluentes. A perda total de MS, não foi influenciada pela exposição. Porém, a exposição aeróbia, não influenciou a estabilidade aeróbia das silagens de milho. Dessa forma, a exposição aeróbia em até 24 horas antes da ensilagem, reduziu o valor nutritivo e a DIVMS da silagem de milho. Além disso, promoveu maior contagem de microrganismos após a abertura do silo.

Palavras-chave: composição bromatológica, deterioração aeróbia, milho, perdas, silagem

ABSTRACT

The trade in crops for making silage is a growing practice in Brazil and in the world due to the difficulties faced by ranchers to produce on their property. In this practice, the material is chopped, transported and ensiled on another farm. During the process, the material is exposed to air until it is ensiled. This can result in losses of nutritional value and quality of the material, due to prolonged respiration and action of plant enzymes, in addition to the growth of undesirable microorganisms. The objective was to evaluate the effect of ensiling 24 hours after harvest on the chemical, microbiological and aerobic stability of corn silage. The treatments were aerobic exposure for 0, 6, 12 or 24 hours and soon after exposure the chopped green corn plant was stored in mini experimental silos. Chemical composition, *in vitro* dry matter digestibility (DIVMS), microorganism count, dry matter losses and aerobic stability of the material were evaluated. Data were analyzed in a completely randomized design and differences were considered significant when $P < 0.05$. Before ensiling, there was an increase of up to 15°C in the temperature of the material exposed to air in relation to the control. The exposure reduced DM levels by 5.5%, CNF by 13.5% and increased EE levels by 39.2%, CP by 6.3%, NDF by 6.4% and FDA by 13%. In addition, it reduced 7% in DIVMS. As for the fermentation quality, the aerobic exposure increased 3.5% in the pH value and 18.8% in the N-NH₃/NT content. Regarding the microbiological count after opening the silo, there was an increase of 19.4% in the count of yeasts and of 25.9% in the count of total bacteria. The fungus count was not influenced by exposure. However, after aerobic stability was broken, yeast, fungi and bacterial counts were not influenced by exposure. Exposure to air increased gas losses by 36.7% and effluent losses by 30.4%. Total MS loss was not influenced by exposure. However, aerobic exposure did not influence the aerobic stability of corn silages. Thus, aerobic exposure up to 24 hours before ensiling reduced the nutritive value and IVDMD of corn silage. In addition, it promoted a higher count of microorganisms after opening the silo.

Keywords: chemical composition, aerobic deterioration, corn, losses, silage

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Temperatura atingida pela silagem de milho durante a exposição ao ar antes da ensilagem	42
Tabela 2 - Composição química e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca das silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos antes da ensilagem	42
Tabela 3 - Valores de pH, nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total das silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos de exposição antes da ensilagem	43
Tabela 4 - Valores de contagem de leveduras, de fungos e de bactérias (log ₁₀ ufc/g) de silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos antes da ensilagem	43
Tabela 5 - Perdas por gases, por efluentes e de matéria seca total de silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos antes da ensilagem	44

LISTA DE ABREVIACES

BAA	Bactérias do ácido acético
BAL	Bactérias do ácido lticas
CNF	Carboidratos não fibrosos
CO2	Dióxido de carbono
DIVMS	Digestibilidade in vitro da matéria seca
DRBC	Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol gar
EE	Extrato etéreo
FDA	Fibra insolúvel em detergente cido
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
LIG	Lignina
MN	Matéria natural
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NIDA	Nitrogênio insolúvel em detergente cido
N-NH3	Nitrogênio amoniacal
NNP	Nitrogênio não-proteico
NT	Nitrogênio total
O2	Oxignio
PB	Proteína bruta
PCA	gar contagem padrão
pH	Potencial hidrogeniônico
TGY	Triptona Glicose Extrato de Levedura gar
UFC	Unidades formadoras de colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2. REVISÃO BIBLOGRÁFICA.....	13
2.1 A cultura do Milho	13
2.2 Processo de ensilagem.....	14
2.3 Qualidade fermentativa e valor nutritivo	15
2.4 Perda em silagens.....	17
2.5 Estabilidade aeróbia	20
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
ARTIGO	27
Valor nutritivo, estabilidade aeróbica e contagens microbiológicas em silagem de milho ensiladas em até 24 horas após colheita.....	27
RESUMO	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	29
Plantio, colheita e ensilagem.....	29
Avaliação da estabilidade aeróbia das silagens.....	30
Composição bromatológica e digestibilidade <i>in vitro</i>	31
Análises de qualidade das silagens	31
Análises das perdas	32
Contagem de fungos, leveduras e bactérias	33
Análise estatística.....	34
RESULTADOS	35
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
TABELAS	44

1. INTRODUÇÃO GERAL

O setor pecuário é um dos segmentos de grande crescimento da economia agrícola. À medida que a demanda por carne e produtos lácteos aumenta, surgem questões sobre como essa demanda será atendida. O consumo de forragem é uma prioridade fisiológica para os ruminantes e uma prioridade econômica para os produtores. A produção de forragem é sazonal em muitas partes do mundo, com excedentes disponíveis durante a colheita e deficientes na estação seca.

O Brasil convive com diversos problemas na produção de forragens e as razões são a estacionalidade na produção, a falta de planejamento forrageiro, a falta de aptidão agrícola e as condições climáticas diferentes. Dessa forma, más decisões de gestão, como deixar forragem picada em vagões ou pilhas, podem resultar em atrasos substanciais no enchimento de silos. Assim, as forragens podem ficar expostas ao ar por períodos prolongados.

A compra da lavoura surge como uma possibilidade inovadora. Nessa nova fase comercial, essas empresas têm desenvolvido maquinário específico para a produção de silagem em unidades comercializáveis. A terceirização das atividades de plantio, colheita e compactação pode ter sido o primeiro passo na busca de melhores resultados técnicos com menores investimentos fixos, na produção de silagens. Entre as gramíneas conservadas, a mais procurada é a silagem de milho (Bernardes e Rêgo, 2014).

Após o corte, a presença de ar na massa de forragem atrasa o início da fermentação e estimula o crescimento de microrganismos indesejáveis, o que resulta em efeitos negativos na fermentação subsequente (McDonald et al., 1991). Para eliminar o ar da massa de forragem, estas devem ser compactada rapidamente em silos.

A escolha da forma de negociação desse volumoso (*in natura* ou ensilado) deve ser respaldada em conhecimento científico. Ao optar pela compra de silagem e realizar reensilagem na propriedade, o desafio é manter a estabilidade aeróbia que pode comprometer o valor nutritivo do alimento através da reativação de microrganismos aeróbios (Michel et al., 2016). Entretanto, quando a opção é comprar a lavoura, transportar e ensilar na fazenda de destino, o atraso na vedação do material ensilado, pode prejudicar o processo fermentativo da silagem após a vedação (Brüning et al., 2017).

Dessa forma, a exposição desse material ao ar, antes e durante a sua utilização, pode proporcionar perdas significativas em seu valor nutricional. Estas perdas estão relacionadas a três fatores: a respiração da planta que utiliza o oxigênio e consome os carboidratos solúveis, produzindo calor; ao crescimento de microrganismos (leveduras, fungos e bactérias) que, na presença do oxigênio, se multiplicam rapidamente e consomem os nutrientes solúveis para o seu crescimento, produzindo água, dióxido de carbono (CO₂) e calor; e também a atividade das enzimas liberadas pela ruptura celular durante o corte decompõem a proteína em peptídeos e aminoácidos livres e os carboidratos em açúcares.

Devido ao aumento da prática de compra de lavoura pelos produtores no Brasil, mais estudos são necessários para determinar com qual velocidade deve ocorrer os processos, desde o corte até a vedação, do material adquirido e identificar as perdas que ocorrem durante o processo.

Objetivou-se avaliar o efeito da ensilagem em até 24 horas após a colheita sobre as características químicas, microbiológicas e estabilidade aeróbia da silagem de milho.

2. REVISÃO BIBLOGRÁFICA

2.1 A cultura do Milho

O milho (*Zea Mays*) é um cereal produzido em diversos continentes e sua importância econômica vai desde a alimentação animal (70% da produção ou até 85% em países desenvolvidos) até a produção de filmes e embalagens biodegradáveis (Paes, 2008). E para a confecção de silagem, a planta de milho é a mais utilizada, como comprovado por Bernardes e Rêgo (2014) em um estudo realizado sobre a prática e utilização das silagens no Brasil, verificaram que dos 215 produtores entrevistados, 82,7% relataram que utilizam o milho para a ensilagem sozinho ou em consórcio com outras forrageiras. Devido a sua qualidade nutricional, alta produção, facilidade de formar lavouras e boa aceitabilidade pelo gado, o milho tem se tornado a cultura preferida para produção de silagem.

A produtividade do milho dependerá do híbrido utilizado, da fertilidade do solo e da adubação, da disponibilidade hídrica e dos cuidados culturais. Na região sudeste do Brasil a produção de matéria seca (MS) de diversos híbridos de milho está entre 8,5 a 18,8 toneladas/ha (Oliveira et al. 2003). E a qualidade da silagem desse material irá depender, além desses fatores citados anteriormente, da maturidade da planta, da

eficiência de compactação, do tempo de fermentação, da qualidade da lona utilizada na vedação, da forma de desabastecimento do silo, além do tempo de exposição aeróbia antes e depois da ensilagem.

A planta de milho preenche os requisitos básicos para confecção de uma boa silagem, como: teor de MS entre 30,0% a 35,0%, o mínimo de 3,0% de carboidratos solúveis na matéria natural (MN), baixo poder tampão, além de proporcionar uma boa fermentação microbiana (Nussio et al., 2001).

No entanto, além da cultura utilizada, a qualidade das silagens depende do material ensilado, do tipo de microrganismos que atuará durante todo o processo de conservação até o alimento ser consumido pelos animais. Logo, o valor nutritivo das silagens está diretamente ligado às características agronômicas da forragem ensilada e ao processo de conservação.

2.2 Processo de ensilagem

A ensilagem é uma técnica de conservação de forrageiras em meio ácido e anaeróbio. Neste ambiente, um grupo de bactérias fermentam carboidratos solúveis e produzem ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, que agem inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis. O objetivo da fermentação é alcançar níveis suficientes de ácido lático para diminuir o pH e preservar os nutrientes da forragem, inibir a ação de microrganismos aeróbios e anaeróbios indesejáveis e diminuir as perdas de MS (Bolsen et al., 1992).

Em meio ácido e anaeróbio, os clostrídios, os fungos e as leveduras são inibidos. Esses microrganismos são indesejáveis, pois estão envolvidos na deterioração anaeróbia (clostrídios e enterobactérias) e deterioração aeróbia (leveduras e fungos) de silagens (Driehuis e Van Wixselaar, 2000), além de competir com as bactérias ácido lácticas (BAL) pelos substratos.

A preservação dos nutrientes começa com a colheita e termina quando o alimento é consumido pelos animais (Wilkinson et al., 2012). Segundo McDonald (1991), Tangni et al. (2013), Weinberg et al. (1996) e Wilkinson et al. (2012) o processo de ensilagem pode ser dividido em quatro fases:

I. Fase aeróbia inicial: quando o oxigênio está presente e o potencial hidrogeniônico (pH) está com valores próximos a 6,0 e 6,5. Nesta fase ocorre respiração das plantas e atividade de proteases e micro-organismos aeróbios.

2. Fase de fermentação: ocorre durante várias semanas após o meio ficar anaeróbio. Nesta fase há predomínio de BAL, que reduz o pH para valores entre 3,8 a 5,0 e inibe a ação de vários micro-organismos indesejáveis.

3. Fase estável: Quando ocorrem poucas alterações e não há presença de oxigênio no silo.

4. Fase de desabastecimento: Nesta fase o ar entra em contato com a silagem reativando vários micro-organismos aeróbios, principalmente leveduras, fungos e bactérias ácido acéticas (BAA).

As perdas de matéria seca e as mudanças na qualidade ocorrem durante cada uma dessas etapas do processo de ensilagem, reduzindo a qualidade do produto fornecido. Os principais estágios em que ocorrem as perdas são: a colheita no campo, a respiração da planta e fermentação, a produção de efluentes e a exposição ao oxigênio durante as fases de armazenamento e alimentação (Borreani et al., 2018).

Durante muito tempo a maior preocupação se concentrava na segunda e terceira fase, mais precisamente na segunda. Entretanto, em relação ao valor nutritivo das silagens e a saúde dos animais, as alterações que podem ocorrer durante a primeira fase (fase aeróbica inicial) são tão importantes quanto as demais. Nesta fase, a presença do oxigênio, favorece o crescimento dos microrganismos que agem consumindo nutrientes e produzindo CO₂ e água. Além disso, nessa fase ocorre a respiração da planta que consome os carboidratos solúveis.

2.3 Qualidade fermentativa e valor nutritivo

O valor nutritivo da silagem está diretamente relacionado à composição e à digestibilidade da forrageira original, sendo que o objetivo da ensilagem é conservar essas características no material. Portanto, o termo qualidade fermentativa trata-se da eficiência do processo fermentativo, que promove a conservação dessa forrageira durante a ensilagem (Tomich et al., 2003).

Entre os principais parâmetros utilizados para avaliar a qualidade fermentativa, estão, o conteúdo de MS, o valor de pH, o conteúdo de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) como proporção de nitrogênio total (NT) e os conteúdos de ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação.

A anaerobiose na massa ensilada ocorre após a compactação e vedação do silo. É necessário que se estabeleça rapidamente esta condição, pois a presença de ar permite a

degradação dos carboidratos solúveis através da respiração da planta e de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos facultativos presentes na forragem. Além disso, as BAL têm o crescimento estimulado em anaerobiose, produzem grande quantidade de ácido responsáveis pela queda do pH (Edwards e McDonald, 1978; McDonald et al., 1991).

Segundo McDonald et al. (1991) silagens de boa qualidade deve possuir o teor de matéria seca entre 30 e 35% no momento da colheita. O teor de MS abaixo de 30% permite o crescimento de clostrídios, que produzem fermentação butírica e causam proteólise da forragem, elevando os níveis de N-NH₃. Em silagens com excelente qualidade fermentativa o teor de ácido butírico deve ser abaixo de 0,1% (Tomich et al., 2003). Além disso, a MS baixa causa perda de nutrientes por lixiviação devido a compactação excessiva.

O teor de MS acima de 35% já começa a dificultar a compactação, que resulta em maior quantidade de oxigênio residual na silagem. Essa condição permite o crescimento de fungos e leveduras, que consomem os carboidratos solúveis da silagem e causam aumento do pH e da temperatura do material (Tabacco et al., 2009). Além disso, as leveduras e os fungos consomem o ácido lático e causam o aumento do pH (Muck, 2010). As silagens bem conservadas possuem valores de pH entre 3,6 a 4,2 (McDonald et al., 1991).

As BAL são os principais microrganismos envolvidos na fermentação anaeróbia, sendo divididas em dois grupos: as homofermentativas, que convertem um mol de glicose em dois moles de ácido lático; o outro grupo são as bactérias heterofermentativas, que convertem a glicose em um mol de ácido lático, um mol de CO₂ e um mol de etanol ou ácido acético (Muck 2010). As bactérias homofermentativas são mais eficientes, pois produzem mais ácido lático e tem menor perda de energia (Pahlow, 2003).

A relação nitrogênio amoniacal sobre o nitrogênio total (N-NH₃/NT) na forragem verde geralmente é menor que 1%. Após o corte da forrageira, inicia-se uma extensa proteólise, com aumento do nitrogênio não-proteico (NNP) para próximo de 40% do NT, nas primeiras 24 horas de ensilagem, chegando atingir 70% na abertura do silo (Ohshima e McDonald, 1978). Em geral, silagens com fermentação eficiente possuem menos de 10% de N-NH₃/NT.

Todos os ácidos formados durante a fermentação contribuem para a redução do pH da silagem, porém o ácido lático é o principal responsável por esse processo, por

apresentar maior constante de dissociação que os demais, promovendo a queda do pH com mais rapidez (Moisio e Heikonen, 1994).

O conteúdo de ácido butírico pode ser considerado um dos principais indicadores negativos da qualidade do processo fermentativo. O aumento na concentração desse ácido está relacionado a extensão da atividade clostridiana sobre a forragem ensilada e a maiores valores finais de pH nas silagens (Fisher e Burns, 1987).

O conteúdo de ácido acético também está relacionado a maiores valores finais de pH nas silagens. Ele está associado, principalmente, à ação prolongada de enterobactérias e BAL heterofermentativas, e, em menor proporção, é produzido por clostrídios. Além de afetar negativamente a queda do pH, esses tipos de fermentações acarretam maiores perdas de matéria seca e energia desse material (Muck e Bolsen, 1991).

Como já visto anteriormente, as enzimas da planta são capazes de promover a degradação das proteínas e altera o valor nutritivo da silagem. Essas proteases se mantem em baixa atividade em valor de pH menor do que 4 (Heron et al., 1989). Já as enterobactérias e os clostrídios, que são microrganismos capazes de prejudicar a fermentação da silagem, não são capazes de crescer em valores de pH abaixo de 5 (McDonald et al., 1991). Portanto, o pH adequado para promover a eficiente conservação da forragem ensilada são valores abaixo de 4.

2.4 Perda em silagens

Desde a colheita da forrageira até a redução do pH do material ensilado, algumas perdas de nutrientes invariavelmente ocorrerão. Os quatro principais fatores que afetam o processo de ensilagem de forma negativa são a respiração e atividade enzimática da planta até o fechamento do silo, a atividade clostrídica no processo fermentativo e a atividade microbiana aeróbia na abertura do silo (Muck, 1988).

A respiração da planta é a principal forma de consumo do oxigênio no silo, embora a respiração por microrganismos aeróbicos possam contribuir (Borreani et al., 2018). Como a respiração da planta e dos microrganismos consomem o mesmo substrato (carboidratos solúveis), causam alterações nas concentrações de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG) e de outras frações aumentam em proporção. Além disso, parte da proteína verdadeira é convertida a NNP (Rotz e Muck, 1994).

De acordo com Brüning et al. (2017), a vedação atrasada aumentou as concentrações de FDN na abertura do silo. Observações semelhantes foram descritas por Mills e Kung (2002), eles atribuíram o aumento de FDN a perda de carboidratos solúveis antes da ensilagem. Além disso, de acordo com Hoedtke et al. (2010), a fração NNP pode aumentar de 50% a 70% durante a conservação devido a proteólise.

Criar um ambiente no silo sem oxigênio é essencial para interromper a respiração da planta, impedir o crescimento microbiano aeróbico e estimular o crescimento de BAL. Os açúcares fermentados pelas BAL produzem principalmente ácidos lácticos e acéticos que diminuem o pH da silagem. Um pH baixo é essencial para inibir a atividade enzimática da planta e impedir o crescimento de microrganismos anaeróbicos indesejáveis.

Na planta viva, uma porção da energia liberada pela respiração é capturada pelo trifosfato de adenosina (ATP), liberando calor (McDonald, 1981). No silo, esse calor não é rapidamente dissipado, aumentando a temperatura da forragem. Se o aquecimento da respiração da planta for suficiente para elevar a temperatura acima de 35 °C, as reações de Maillard podem causar escurecimento, polimerização de aminoácidos e açúcares aumentando o conteúdo de nitrogênio ligado à fibra em detergente ácido (NIDA) e liberando calor. Além disso, a taxa de respiração atinge o pico quando a temperatura da silagem atinge 46 °C, porém as enzimas responsáveis por esse processo são inativadas quando a temperatura atinge 54 °C (Pitt et al., 1985).

Outras enzimas vegetais também são ativas neste período. As enzimas liberadas pela ruptura celular durante o corte decompõem a proteína em peptídeos e aminoácidos livres e os carboidratos em açúcares. A atividade dessas enzimas geralmente causam pouca mudança na qualidade da forragem nesta fase de ensilagem, a menos que sejam alcançadas populações de aproximadamente 10^8 unidades formadoras de colônias (UFC) de leveduras ou bactérias/g de forragem e/ou 10^6 UFC de fungos filamentosos/g de forragem (Pitt et al., 1991). Uma vez selado o silo, a respiração da planta remove o oxigênio restante em questão de horas (Pitt et al., 1985).

As enterobactérias e as BAL normalmente dominam todos os outros microrganismos nos primeiros 1 a 3 dias após a vedação. No entanto, uma vez que o pH cai para 5, as enterobactérias declinam rapidamente, permanecendo as BAL em maior concentração na silagem (Muck, 1991). A terceira principal bactéria anaeróbica, os

clostrídios, tem um efeito muito mais prejudicial na qualidade da silagem se o pH da silagem não for suficientemente baixo. Esses anaeróbios estritos fermentam açúcares, ácido lático e aminoácidos que produzem produtos de fermentação butírica, reduzindo a palatabilidade da silagem (McDonald, 1981).

Em um estudo de 1966 de McDonald et al. mostraram que a alta temperatura (42 °C) durante a ensilagem de forragem úmida resultou em uma mudança na fermentação do tipo lático para um tipo clostridial, com aumento de perdas. Muck e Dickerson (1988) mostraram que o aumento da temperatura de armazenamento de 15 para 35 °C aumentou a proteólise e resultou em aumento nas concentrações de amônia nas silagens de alfafa.

A respiração dos microrganismos aeróbicos é o principal efeito sobre a qualidade da silagem. O substrato para a respiração microbiana é dependente do organismo. As leveduras e BAA normalmente consomem apenas compostos solúveis, como açúcares e produtos de fermentação (Courtin e Spoelstra, 1990). Os bacilos usam proteínas e alguns polissacarídeos. Os fungos filamentosos degradam a maior variedade de substratos, incluindo carboidratos estruturais e LIG (McDonald, 1981).

Muitas das leveduras presentes quando o silo é selado são apenas microrganismos aeróbicos, suas populações declinam rapidamente quando o oxigênio não está presente. No entanto, leveduras fermentativas estão normalmente presentes e podem aumentar em número suficiente para afetar a qualidade da silagem (Muck et al., 1992). Essas leveduras fermentam tipicamente açúcares a etanol, causando perda de MS (McDonald, 1981).

Em relação às leveduras, os fungos crescem mais lentamente na silagem exposta ao ar. De acordo com Gerlach (2013), esses microrganismos demoram aproximadamente oito dias para crescerem significativamente na silagem. Isto acontece porque os fungos não toleram pH abaixo de cinco, e assim crescem após a proliferação das leveduras (Muck, 2010).

Brüning et al. (2017) relataram os efeitos do atraso na vedação da silagem de milho em silos com baixa densidade de compactação (191 kg de MS/m³). Atrasar a vedação em 4 dias levou a perdas de MS de até 11%, um aumento na contagem de leveduras e um declínio de até 65% em carboidratos solúveis em silagens.

Nutcher et al. (2014) observaram aumento das perdas de 27,15 % na matéria orgânica (MO) em silagens de milho expostas ao ar por 24 horas antes da ensilagem. Considerando-se que a tonelada de silagem de milho custa 65 dólares, em 1000 toneladas,

os resultados deste teste mostram que 582 dólares seriam economizados ao se promover a cobertura imediata ao invés de atrasar 24 horas.

Muck (1988) observou que a perda de MS é causada pela respiração através do consumo dos carboidratos solúveis quando o silo é enchido lentamente. Henderson e McDonald (1975) relataram perdas de MS três vezes maiores em silagens que foram seladas após 3 dias do que aquelas obtidas a partir de silos que foram vedados imediatamente.

Outra alteração possível de ser observada em silagens com processo de vedação atrasado é o aumento na concentração de ácido acético, este ocorre devido ao aumento na atividade de enterobactérias e na fermentação heterolática, aumentando o pH no material ensilado (Mills e Kung, 2002; Weiss et al., 2016).

As técnicas inadequadas de ensilagem (fase aeróbia prolongada e fermentação heterolática ineficiente) e de “desensilagem” (aquecimento) ainda vigentes no nosso meio resultam no desperdício excessivo de glicídios solúveis e no aumento do teor de FDN no produto final (Mühlbach, 2003). Embora algumas perdas sejam inevitáveis, uma boa gestão prática pode reduzir ou compensar essas perdas para fornecer forragem de qualidade aos animais (Rotz, 2003).

2.5 Estabilidade aeróbia

Reconhece-se agora que as mudanças durante a fase de alimentação são tão importantes quanto aquelas no silo fechado do ponto de vista da preservação da ingestão de nutrientes e da manutenção de boa qualidade higiênica a silagem (Borreani e Tabacco, 2010). Grande parte do esforço para produzir altos rendimentos por hectare e de alta qualidade são perdidos se ocorrer rápida perda da estabilidade aeróbica.

O termo estabilidade aeróbia é usado para definir a resistência que a massa ensilada oferece a deterioração após ser exposta ao ar, que é definida como tempo gasto para a temperatura da silagem exceder a temperatura ambiente em 2 °C. Quando o oxigênio é introduzido na silagem, os microrganismos aeróbicos começam a crescer, respirando inicialmente substratos solúveis e, em seguida, compostos mais complexos e produzindo calor.

Leveduras geralmente iniciam a deterioração aeróbica, consumindo açúcares e ácidos de fermentação e aumentando a temperatura e o pH da silagem (Pahlow et al., 2003). Com o pH aumentado, os bacilos e outras bactérias aeróbicas crescem,

aumentando ainda mais a temperatura. Finalmente, os fungos completam a deterioração da silagem.

A temperatura ambiente elevada representa um desafio à produção de silagem, especialmente em relação ao crescimento de microrganismos indesejáveis como clostrídios e enterobactérias (Adesogan, 2009). Kim e Adesogan, (2006) demonstraram que o milho ensilado a 40 °C em comparação com o milho ensilado a 20 °C, tiveram uma redução na estabilidade aeróbica.

A deterioração aeróbia dos alimentos causada por fungos filamentosos causa perda de elementos nutritivos e de energia, além do risco de contaminação com micotoxinas (Lindgren et al., 2002). Essas micotoxinas, além de prejudicar os animais que ingerem o alimento contaminado causando perdas econômicas, prejudica também a saúde do homem que ingere o produto final. Isto se dá pelo efeito residual ao longo da cadeia alimentar, isto é, transferindo as micotoxinas ingeridas pelo animal aos alimentos (carne e leite) destinados à alimentação humana (Oldenburg, 1991).

Dos Anjos et al. (2018) avaliaram a estabilidade aeróbia em silagens de sorgo reensiladas após 12 h de exposição ao ar e não observaram ($P>0,05$) redução na estabilidade aeróbia e no valor nutricional. Coelho et al. (2018) avaliaram a estabilidade aeróbia de silagens de milho exposta ao ar por 36 horas em dias quentes (23,5 a 29,6 °C) antes da reensilagem e não estabilidade aeróbia entre os tratamentos. Neste trabalho o aumento da temperatura ocorreu após 136 h de exposição ao ar (Coelho et al., 2018).

A exposição ar da massa a ser ensilada também pode influenciar a estabilidade aeróbia. O atraso na vedação, pode levar ao desenvolvimento de leveduras, essas sobrevivem durante o processo de ensilagem em estágio de repouso. Após reexposição ao ar essas podem se proliferar rapidamente e reduzir o tempo de estabilidade da silagem (Pahlow et al., 2003).

A atividade dos microrganismos que deterioram a silagem será mais intensa, quanto melhor for a qualidade da silagem, em função dos maiores teores de ácido láctico e carboidratos residuais (Jobim et al., 2007). Segundo Matos et al. (2006), as silagens mais susceptíveis a deterioração aeróbia são as de milho, que além de serem ricas em carboidratos solúveis, contém também alto teor de amido. Logo, se por um lado as silagens de alto valor nutritivo representam uma excelente alternativa para a alimentação

animal, por outro, elas requerem uma maior atenção durante o seu armazenamento e utilização.

Além da perda econômica direta de MS, a deterioração ou a silagem estragada também pode causar perdas indiretas, devido ao menor valor nutritivo, palatabilidade reduzida e risco de efeitos negativos no desempenho e na saúde dos animais (Kung et al. (1998).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESOGAN, A. T. Challenges of tropical silage production. In: Proceedings of 15th International Silage Conference. University of Wisconsin, Madison. 2009. p. 139-154.
- BERNARDES, T. F.; DO RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 3, p. 1852-1861, 2014.
- BOLSEN, K. K.; LIN, C.; BRENT, B. E. et al. Effect of Silage Additives on the Microbial Succession and Fermentation Process of Alfalfa and Corn Silages. *Journal of Dairy Science*, 75(11), p. 3066-3083, 1992.
- BORREANI, G. et al. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 5, p. 3952-3979, 2018.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science*, v. 93, n. 6, p. 2620-2629, 2010.
- BRÜNING, D. et al. Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. *Grass and Forage Science*, v. 73, n. 1, p. 53-66, 2017.
- COELHO, M. M. 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.
- COURTIN, M. G.; SPOELSTRA, S. F. A simulation model of the microbiological and chemical changes accompanying the initial stage of aerobic deterioration of silage. *Grass and Forage Science*, v. 45, n. 2, p. 153-165, 1990.

- DOS ANJOS, G. V. S. et al. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage *Journal of Dairy Science*, v.101, p.1–8, 2018.
- DRIEHUIS, F.; WIKSELAAR, P. G. V. The occurrence and prevention of ethanol fermentation in high-dry-matter grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, p. 711-718, 2000.
- EDWARDS, R. A.; MCDONALD, P. *Fermentation of silage-A review*. West Moines: Iowa, 1978.
- FISHER, D. S.; BURNS, J. C. Quality analysis of summer-annual forages. II. Effects of carbohydrate constituents on silage fermentation. *Agronomy Journal*, v.79, n.2, p.242-248, 1987.
- GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K.; et al. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agricultural and Food Science*, Berlin. Germany, v.22, p.168 – 181, 2013.
- HENDERSON, A. R.; MCDONALD, Peter. The effect of delayed sealing on fermentation and losses during ensilage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 26, n. 5, p. 653-667, 1975.
- HERON, S. J. E.; EDWARDS, R. A.; McDONALD, P. Changes in the nitrogenous components of gamma-irradiated and inoculated ensiled ryegrass. *Journal of Science and Food Agriculture*, v.37, n.10, p.979-985, 1986
- HERON, S. J. E.; EDWARDS, R. A.; PHILLIPS, P. The effect of pH on the activity of ryegrass (*Lolium multiflorum*) proteases. *Journal of Science and Food Agriculture*, v.46, n.3, p.267-277, 1989
- HOEDTKE, S.; GABEL, M.; ZEYNER, A. Der Proteinabbau im Futter während der Silierung und Veränderungen in der Zusammensetzung der Rohproteinfraktion. *Übersichten Tierernährung*, v. 38, p. 157-179, 2010.
- JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, p.101-119, 2007.
- KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, v. 89, n. 8, p. 3122-3132, 2006.

- KUNG JR, L.; SHEPERD, A. C.; SMAGALA, A. M. The Effect of Preservatives Based on Propionic Acid on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage and a Total Mixed Ration¹. *Journal of Dairy Science*, v. 81, n. 5, p. 1322-1330, 1998.
- LINDGREN, S.; PAHLOW, G.; OLDENBURG, E. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. In: *Multi-function grasslands. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation*, La Rochelle, France. 2002. p. 503-511.
- MACEDO, C. H. O.; ANDRADE, A. P.; SANTOS, E. M. et al. Perfil fermentativo e composição bromatológica de silagens de sorgo em função da adubação nitrogenada. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 13, n. 2, p. 371-382, 2012.
- MATOS, D. S.; GUIM, A.; BATISTA, A. M. V. et al. Estabilidade aeróbica e degradabilidade da silagem de maniçoba (*Manihot* sp.) emurcheada. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.1, p.109-114, 2006.
- MCDONALD, P. et al. *The biochemistry of silage*. John Wiley & Sons, Ltd., 1981.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. *The biochemistry of silage*. 2^a ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340p.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; WHITTENBURY, R. The effect of temperature on ensilage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 17, n. 10, p. 476-480, 1966.
- MICHEL, P. H. F.; JAYME, D. G.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; RAPOSO, V. S.; LIMA, E. M.; SANTOS, F. P. C. 2017. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. *Grass and Forage Science*, p. 1-9.
- MILLS, J. A.; KUNG JR, L. The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. *Journal of Dairy Science*, v. 85, n. 8, p. 1969-1975, 2002.
- MOISIO, T.; HEIKONEN, M. Lactic acid fermentation in silage preserved with formic acid. *Animal Feed Science and Technology*, v.47, n.1, p.107-124, 1994.
- MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG. v. 39 (Suplemento especial), p.183-191. 2010.

- MUCK, R. E.; DICKERSON, J. T. Storage temperature effects on proteolysis in alfalfa silage. *Transactions of the ASAE*, v. 31, n. 4, p. 1005-1009, 1988.
- MUCK, R. E.; PITT, R. E.; LEIBENSPERGER, R. Y. A model of aerobic fungal growth in silage. 1. Microbial characteristics. *Grass and Forage Science*, v. 46, n. 3, p. 283-299, 1991.
- MUCK, R. E. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*, v. 71, n. 11, p. 2992-3002, 1988.
- MUCK, R. E. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*, v. 71, n. 11, p. 2992-3002, 1988.
- MUCK, R. E.; BOLSEN, K. K. Silage preservation and additive products. *Field Guide and Silage Management in North America*, p.105-126, 1991.
- MÜHLBACH, P. R. F. Produção de leite com vacas de alta produtividade. *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v. 40, 2003.
- NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; DIAS, F. N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. *Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas*, v. 1, p. 127-145, 2001.
- NUTCHER, K. R. Effects of Covering System, Sealing Time, and Packing on Fermentation, Nutritional Quality, and Organic Matter Loss of Corn Silage in a Drive-over Pile. 2014.
- OHSHIMA, M.; MCDONALD, P. A review of the changes in nitrogenous compounds of herbage during ensilage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 29, n. 6, p. 497-505, 1978.
- OLDENBURG, E. Mycotoxins in conserved forage. *Landbauforschung Voelkenrode. Sonderheft (Germany, FR)*, 1991.
- OLIVEIRA, J. S.; SOBRINHO, F. S.; PEREIRA, R. C. Potencial de utilização de híbridos comerciais de milho para silagem, na região sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.2, n.1, p.62-71, 2003.
- PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos dos grãos de milho. Cap. 2 In: *A cultura do milho*. 2008 p.47-61. Embrapa milho e sorgo.

- PITT, R. E.; MUCK, R. E.; LEIBENSPERGER, R. Y. A quantitative model of the ensilage process in lactate silages. *Grass and Forage Science*, v. 40, n. 3, p. 279-303, 1985.
- PITT, R. E.; MUCK, R. E.; PICKERING, N. B. A model of aerobic fungal growth in silage. 2. Aerobic stability. *Grass and Forage Science*, v. 46, n. 3, p. 301-312, 1991.
- ROTZ, C. A.; MUCK, R. E. Changes in forage quality during harvest and storage. *Forage quality, evaluation, and utilization*, p. 828-868, 1994.
- ROTZ, C. A. How to maintain forage quality during harvest and storage. In: *Western Canadian Dairy Seminar*. 2003. p. 227-236.
- TABACCO, E.; PIANO, S.; CAVALLARIN, L. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *Journal of Applied Microbiology*. v. 107, p. 1632–1641. 2009.
- TANGNI, E. K.; PUSSEMIER, L.; VAN HOVE, F. Mycotoxin Contaminating Maize and Grass Silages for Dairy Cattle Feeding: Current State and Challenges. *Journal of Animal Science Advances*. v. 3, n.10, p.492-511, 2013.
- TOMICH, 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.
- WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage, *Microbiology Reviews*, v.19, p.53-68, 1996.
- WEISS, K.; KROSCHEWSKI, B.; AUERBACH, H. 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*, v. 99, n. 10, p. 8053-8069, 2016.
- WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, v.68, p.1–19, 2012.

ARTIGO

Valor nutritivo, estabilidade aeróbica e contagens microbiológicas em silagem de milho ensiladas em até 24 horas após colheita

Pamella Grossi de Sousa¹, Lúcio Carlos Gonçalves¹, Guilherme Lobato Menezes¹, Joana Ribeiro da Glória¹, Roseane Batitucci Passos De Oliveira², Daniel Ferreira de Oliveira Melo¹, Frederico Patrus Ananias de Assis Pires¹, Diogo Gonzaga Jayme¹

¹Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil, Av. Antônio Carlos 6627, CEP: 30.161-970; e ²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil, Av. Antônio Carlos 6627, CEP: 30.161-970.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da ensilagem em até 24 horas após a colheita sobre as características químicas, microbiológicas e estabilidade aeróbia da silagem de milho. Os tratamentos foram, a exposição aeróbia por 0, 6, 12 ou 24 horas. Logo após, a planta de milho verde picada foi armazenada em mini silos experimentais. Foram avaliadas a composição química, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), a contagem de microrganismos, a perda de matéria seca e a estabilidade. Os dados foram analisados em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, com o grupo controle (0) e três tempos de exposição ao ar (6, 12 e 24 horas) e cinco repetições. A exposição aumentou até 15°C na temperatura em relação ao tratamento controle. A exposição, reduziu os teores de MS em 5,5%, de CNF em 13,5% e aumentou os teores de EE em 39,2%, de PB em 6,3%, de FDN em 6,4% e de FDA em 13%. Além disso, reduziu 7% a DIVMS. Quanto aos parâmetros fermentativos, a exposição aeróbia aumentou 3,5% no valor de pH e 18,8% no teor de N-NH₃/NT. Em relação a contagem microbiológica após a abertura do silo, houve um aumento de 19,4% na contagem de leveduras e de 25,9% na contagem de bactérias totais. Já a contagem de fungos, não foi influenciada pela exposição. Porém, após a quebra da estabilidade aeróbia, a contagem de leveduras, fungos e bactérias não foram influenciadas pela exposição. A exposição ao ar, aumentou 36,7% as perdas por gases e reduziu 30,4% as perdas por efluentes. A perda total de MS, não foi influenciada pela exposição. A exposição aeróbia não influenciou a estabilidade aeróbia das silagens de milho. Dessa forma, a exposição aeróbia em até 24 horas antes da ensilagem, reduziu

o valor nutritivo e a DIVMS da silagem de milho. Além disso, promoveu maior contagem de microrganismos após a abertura do silo.

Palavras-chave: composição bromatológica, deterioração aeróbia, perdas, respiração

INTRODUÇÃO

A silagem é o principal alimento utilizado na dieta de vacas leiteiras (Weinberg et al., 2004), sendo que no Brasil, a silagem de milho é a principal fonte de energia e fibra na dieta desses animais (Bernardes e Rêgo 2014). Com um bom planejamento de volumoso na propriedade, diminui-se a necessidade de vender animais a baixo custo por falta de pastagens e é possível ainda minimizar os custos de produção, não alterando índices produtivos e reprodutivos.

A conservação de forragens frescas por meio da ensilagem, ocorre em meio anaeróbio, via de fermentação predominantemente láctica. As bactérias lácticas, convertem os carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, desta forma reduzem o pH da silagem. Porém, a planta continua respirando e consumindo os carboidratos solúveis, até que todo o oxigênio presente na massa ensilada seja consumido.

Atualmente, alguns fatores têm contribuído para o aumento da exposição aeróbia do material antes da sua ensilagem. No Brasil, um dos principais fatores é a comercialização de silagens ou lavouras entre fazendas. O motivo são as dificuldades enfrentadas pelos pecuaristas, para produzirem silagem em suas propriedades. Segundo Bernardes e Rêgo (2014), os principais desafios são, a instabilidade climática, a limitação de mão de obra e financeira que o produtor tem para comprar equipamentos adequados para colheita. Outros fatores envolvidos são, a seca prolongada, falta de planejamento, perdas excessivas na produção, alto custo de produção e a disponibilidade de área para plantio de lavouras.

Nesse contexto, algumas fazendas têm se especializado na produção de silagem, devido à alta demanda desse volumoso no mercado. Porém, essa prática envolve a colheita do material na fazenda de origem e a sua ensilagem na propriedade de destino. Nessa operação, inevitavelmente o material é exposto ao oxigênio permitindo a proliferação de microrganismos deterioradores (Chen e Weinberg 2014). Essa exposição, permite o crescimento das leveduras, sendo os primeiros microrganismos indesejáveis a se desenvolverem. A exposição aeróbia, pode reduzir a qualidade e a digestibilidade das silagens, devido à redução dos carboidratos solúveis essenciais para que ocorra uma boa fermentação e uma boa conservação (Filya et al. 2006).

Objetivou-se avaliar o efeito da ensilagem em até 24 horas após a colheita sobre as características químicas, microbiológicas e estabilidade aeróbia da silagem de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantio, colheita e ensilagem

A lavoura de milho do cultivar BM 3063 PRO2, foi plantada em novembro de 2018, na Fazenda Experimental Professor Hélio Barbosa, situada em Igarapé, Minas Gerais, Brasil (latitude 19° 28'S, longitude 44° 15'W e altitude de 849m). O espaçamento utilizado, foi de 70 cm entrelinhas e a adubação de plantio foi feita com 350 kg/ha de 04-30-10 (NPK) + 35 kg/ha de ureia (48%N). Posteriormente, foram aplicados 400 kg/ha de nitrato de amônio (32%) + 22 kg/ha de FTE (microminerais) + 86 kg/ha de cloreto de potássio (58%) em cobertura.

A colheita foi realizada, quando a planta atingiu 33% de MS. A lavoura foi colhida e picada a aproximadamente 1- 2,0 cm com ensiladeira convencional (JF C120 AT; JF Máquina de agricultura Itapira, Brasil) e ensilada em silos experimentais. Os silos eram compostos de baldes de plástico de 20 L equipados com válvulas de Bunsen, para permitir

a liberação do gás de fermentação (mini-silos). Um saco de algodão, contendo 2kg de areia seca em estufa, foi colocado dentro de cada balde a fim de cobrir o fundo, para permitir a medição de efluentes (Pedroso et al., 2008).

Parte do material picado, foi colocado em 5 mini-silos e realizada a compactação e vedação dos silos (tratamento controle). O restante do material colhido, foi separado em 3 partes, onde cada um permaneceu exposto ao ar por diferentes tempos (6, 12 ou 24 horas). Essa exposição foi realizada em um galpão coberto em temperatura ambiente. Passado esse tempo, a temperatura da silagem foi medida e logo após o material foi ensilado e vedado.

Após o enchimento, os silos foram vedados. Decorridos os 334 dias da ensilagem, os baldes foram abertos e as amostras foram coletadas, desprezando-se as camadas superiores, inferiores e laterais da silagem de cada mini-silo.

Avaliação da estabilidade aeróbia das silagens

A avaliação da estabilidade aeróbia das silagens, foi realizada colocando-se baldes plásticos contendo 1,5 kg de silagem em uma sala climatizada, com temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Os baldes, foram cobertos com papel alumínio, permitindo-se que o ar entrasse em contato com a silagem, porém, protegendo-as de contaminações do ambiente. A temperatura das silagens, foi registrada nos tempos de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 30, 36, 42, 54, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188, 200, 224 e 240 horas, utilizando-se um termômetro de mercúrio (Termômetro analógico para Estufas; MODELO: TAE-110) inserido a 10 cm no centro da massa ensilada. A deterioração aeróbia, foi considerada por meio do tempo (h) necessário para a elevação da temperatura das silagens em 2°C em relação a temperatura ambiente. Além disso, em outro conjunto de baldes, foi colocado 1,5 kg de silagem para rastrear as mudanças nas contagens microbianas, N-NH₃ e de pH.

Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro*

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, o conteúdo de matéria seca, foi determinado em estufa a 105°C (Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990; method ID 934.01). O conteúdo de proteína bruta (PB), foi determinado pelo método Kjeldahl (AOAC 1990; method ID 954.01) multiplicando o valor de N x 6.25. A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e a lignina em detergente ácido (LDA), foram determinadas pelo método sequencial, de acordo com Van Soest et al. (1991). O teor de cinzas, foi determinado pela queima total de matéria orgânica em mufla a 600°C por 4 h, (AOAC, 1990 método 942.05). O extrato etéreo (EE) foi obtido de acordo com o AOAC International (1990, método 920.39).

A porcentagem de carboidratos não fibrosos (CNF), foi calculada pela equação proposta pelo NRC (2001):

$$100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%Cinzas)$$

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), foi realizada segundo procedimento descrito por Tilley e Terry (1963) e adaptado por Holden (1999) com a utilização do simulador de rúmen DaisyII (Ankom Technology, Macedon, NY, EUA).

Análises de qualidade das silagens

Com auxílio de uma prensa hidráulica, foi extraído de cada amostra de silagem 100 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. A concentração de nitrogênio amoniacal, foi obtida com a destilação no equipamento de Kjeldahl (AOAC, 2012) com óxido de magnésio e cloreto de cálcio como meio para a neutralização da

amônia, empregando-se solução receptora de ácido bórico e titulação com ácido clorídrico a 0,1N.

Análises das perdas

Antes da confecção das silagens, o peso dos silos experimentais vazios + tampa + saco de areia seca foi registrado. Após preenchidos com a forragem, compactados, com as tampas e vedados com fita adesiva, os silos foram pesados cheios.

No momento da desensilagem, que ocorreu aos 334 dias após a ensilagem, eles foram pesados cheios para determinação da produção de gases conforme a fórmula:

$$G = \frac{[(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pen) * MSab]}{[(PCen - Pen) * MSen]} \times 100$$

Em que:

G = Perdas por gases em (% MS);

PCen = Peso do balde cheio na ensilagem (kg);

Pen = Peso do conjunto (balde vazio + tampa + areia seca + saco) na ensilagem (kg);

MSen = Teor de MS da forragem na ensilagem (%);

PCab = Peso do balde cheio na abertura (kg);

MSab = Teor de MS da forragem na abertura (%).

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

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

Em que:

PE = perdas por efluente (kg/t de MV);

Pef = peso de efluente (Peso do conjunto vazio após a abertura – peso do conjunto vazio antes do enchimento);

MVi = 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 (Jobim et al., 2007), conforme a equação:

$$PMS = \frac{[(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pab) * MSab]}{[(PCen - Pen) * MSen]} \times 100$$

Em que:

PMS = Perda total de MS (%);

PCen = Peso do balde cheio na ensilagem (kg);

Pen = Peso do conjunto (balde + tampa + areia seca + saco) na ensilagem (kg);

MSen = Teor de MS da forragem na ensilagem (%);

PCab = Peso do balde cheio na abertura (kg);

Pab = Peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura (kg);

MSab = Teor de MS da forragem na abertura (%).

A metodologia utilizada nesse trabalho para a análise de perdas foi descrita por Schmidt (2006).

Contagem de fungos, leveduras e bactérias

Foram utilizadas amostras representativas das silagens para contagem e identificação de micro-organismos no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Para a contagem de micro-organismos aeróbios (leveduras, bolores e bactérias aeróbias) foi utilizada a técnica de espalhamento em placa (plate dilution spread method) na diluição 10^{-1} . Foram pesados 25 g de amostra e adicionados em frascos contendo 225 mL de solução peptonada 0,1% esterilizados em autoclave à 121°C por 15 minutos e agitados manualmente durante dois minutos. A partir do extrato obtido, após repouso de um minuto, foram preparadas as diluições decimais (10^{-2} a 10^{-5}) em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução peptonada 0,1% estéril. Foi semeado 0,1 mL das diluições em placas de Petri descartáveis e o inóculo espalhado sobre a superfície do ágar com uma espátula de Drigalski.

A contagem total de leveduras foi realizada em placa contendo ágar com extrato de levedura de glicose triptona (TGY) após incubação aeróbia por 4 dias a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de acordo com Pitt e Hocking (2009). A contagem total de fungos foi realizada em placa contendo ágar cloranfenicol dicloran-rose-bengal (DRBC) após um período de incubação aeróbia de 5 dias a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Pitt e Hocking, 2009). As contagens bacterianas totais foram realizadas em placa contendo ágar (PCA) após um período de incubação anaeróbica por 48 h a 35°C , segundo Pitt e Hocking (2009). As placas foram examinadas diariamente para características típicas de colônia e morfológicas associadas a cada meio de crescimento. As contagens microbianas totais foram expressas como unidades formadoras de colônia por grama de silagem (UFC g^{-1}).

Análise estatística

Os dados, foram analisados em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, com o grupo controle (0) e três tempos de exposição ao ar (6, 12 e 24 horas) e cinco repetições (parcelas de campo). Os valores de contagem de microrganismos, passaram por uma transformação logarítmica antes de serem analisados. Os valores de estabilidade aeróbia, passaram pelo teste de Kruskal Wallis por não ter distribuição

normal, nem após transformação. Para a análise dos resultados, foi utilizado o procedimento “GLM” do SAS® de acordo com o modelo abaixo. $Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$. Em que: Y_{ij} = valor referente à observação do tempo de exposição ao ar j na repetição i ; μ = média geral; T_j = efeito do tempo de exposição ao ar j ($j= 1, 2, 3, 4$); e_{ij} = erro aleatório associado à observação. Polinômios ortogonais, foram utilizados para determinar se o tempo de exposição ao ar resultou em um efeito linear ou quadrático sobre os parâmetros medidos. As diferenças, foram consideradas significativas quando $P < 0.05$.

RESULTADOS

Antes da ensilagem, ocorreu um aumento de até 15°C na temperatura do material exposto ao ar em relação ao controle (Tabela 1).

A única variável que não foi influenciada ($P > 0,05$) pela exposição aeróbia, foi o teor de cinzas (Tabela 2). Entretanto, a exposição aeróbia reduziu os teores de MS ($P < 0,05$) em 5,5% e CNF ($P < 0,01$) em 13,5% e aumentou os teores de EE ($P < 0,05$) em 39,2%, de PB ($P < 0,05$) em 6,3%, de FDN ($P < 0,05$) em 6,4% e de FDA ($P < 0,05$) em 13%. A mesma, reduziu também 7% da DIVMS ($P < 0,01$).

A exposição aeróbia até 24 horas, aumentou o valor de pH ($P < 0,05$) e aumentou 18,8% o teor de N-NH₃/NT ($P < 0,05$) (Tabela 3).

A exposição ao ar, não influenciou ($P = 0,2253$) a estabilidade aeróbia das silagens de milho. Em relação a contagem microbiológica, após a abertura dos silos, houve um aumento de 19,4% na contagem de leveduras ($P < 0,01$) e de 25,9% na contagem de bactérias totais ($P < 0,01$). Já a contagem de fungos, não foi influenciada ($P > 0,05$) pela exposição. Porém, após a quebra da estabilidade aeróbia a contagem de leveduras, fungos e bactérias não foram influenciadas ($P > 0,05$) pela exposição (Tabela 4).

A exposição ao ar, aumentou ($P < 0,05$) 36,7% as perdas por gases e reduziu ($P < 0,01$) 30,4% as perdas por efluentes. A perda total de MS, não foi influenciada ($P > 0,05$) pela exposição (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Desde a colheita da forrageira, até a redução do pH do material ensilado, algumas perdas de nutrientes invariavelmente ocorrerão. Durante a exposição ao ar, a massa ensilada, está susceptível à ação de microrganismos aeróbios (Woolford, 1990) e anaeróbios facultativos. A intensidade das perdas nutricionais e de MS na silagem, dependerá da qualidade do material ensilado e do tempo que o material será exposto ao ar antes da ensilagem (Chen e Weinberg, 2014; Lima et al., 2017), além da eficiência dos processos durante a confecção das silagens, como a compactação e a vedação do silo.

Neste estudo, 24 horas de exposição aeróbia, alterou a composição química e a DIVMS das silagens. A exposição aeróbia, reduziu 13,5% no teor de CNF em relação à silagem controle, ou seja, a cada hora de exposição a silagem perdeu 2,13 g/kg de MS de CNF. Os CNF, são os carboidratos solúveis consumidos pela planta durante a respiração celular e pelas bactérias para a produção de ácidos orgânicos. Criar um ambiente no silo sem oxigênio, é essencial para interromper a respiração da planta, impedir o crescimento microbiano aeróbico e estimular o crescimento de BAL. Henderson e McDonald (1975) também observaram que, silagens vedadas com três dias de atraso, possuíam um menor conteúdo de carboidratos solúveis.

Enquanto a planta está viva, a respiração consome os carboidratos solúveis, liberando calor (McDonald, 1981). No silo, esse calor não é rapidamente dissipado. Isso causa o aumento da temperatura da forragem que justifica o aumento de 15°C na silagem exposta ao ar em relação ao tratamento controle. Em aerobiose, as BAA e bactérias lácticas heterofermentativas facultativas também utilizam os carboidratos solúveis para produzir

ácido acético. O teor de CNF é reduzido em decorrência do maior consumo dos carboidratos solúveis.

Como consequência da diminuição do CNF, ocorreu uma maior concentração dos outros componentes, principalmente o conteúdo de FDN e FDA, que aumentaram 6,4% e 13%, respectivamente. O conteúdo de FDN, a cada hora de exposição ao ar, aumentou 1,15 g/kg de MS, enquanto o FDA aumentou 1,18 g/kg de MS. Brüning et al. (2017) e Mills e Kung (2002) também observaram que, a vedação atrasada causava um aumento nas concentrações de FDN. Velho et al. (2006) e Brüning et al. (2017), também observaram aumento ($P < 0,05$) no teor de FDN e diminuição ($P < 0,05$) na concentração de CNF quando o material foi exposto ao ar por 12h. Segundo Michel et al. (2017), a maior concentração da fração fibrosa da silagem, é decorrente da ação de fungos e leveduras que consomem os carboidratos solúveis. Muck (2010) constatou que, em meio aeróbio as BAA também podem consumir os carboidratos solúveis. Os dados da literatura evidenciam que, em termos de proporção e concentração, a exposição aeróbia, causa aumento das frações fibrosas da silagem (Tabacco et al., 2011).

Como os CNF são compostos orgânicos de alta digestibilidade, a sua redução na silagem, pode resultar em menor digestibilidade do alimento (McDonald et al., 1991). Nesse sentido, a DIVMS foi reduzida em 7% na silagem exposta ao ar antes da ensilagem, ou seja, a cada hora que a silagem permaneceu exposta ao ar, diminuiu 1,91 g/kg de MS da DIVMS. Essa menor DIVMS das silagens expostas, está relacionada à redução dos teores de CNF e a maior proporção de FDN e FDA nessas silagens.

Outro efeito do consumo de carboidratos solúveis pela respiração ou por microrganismos indesejáveis, é o aumento proporcional no conteúdo de PB. Neste estudo, ocorreu um aumento de 6,3% no conteúdo de PB, ou seja, as silagens que foram submetidas a exposição aeróbia antes da vedação, aumentaram 0,22 g/kg na MS do

conteúdo de PB a cada hora de exposição. Porém, devido as altas temperaturas atingidas durante a exposição, pode ter ocorrido polimerização de aminoácidos, devido a reação de Maillard, aumentando o conteúdo de nitrogênio ligado à fibra em detergente ácido (NIDA). Bruning et al. (2017) também observaram maior teor de PB em silagens expostas por 2 e 4 dias.

Como pode ser observado nesse experimento, através da análise da qualidade fermentativa, a exposição aeróbia do material antes da ensilagem, aumentou 18,8% do conteúdo de N-NH₃/NT. Isso significa que, uma parte considerável da PB não está na forma de proteína verdadeira e sim na forma de NNP, devido a proteólise (Hoedtke et al., 2010). Além disso, o aumento nos valores de pH, se deve a exposição aeróbia da silagem, que permite o crescimento de microrganismos produtores de ácido acético (Pahlow, 1991). Brüning et al. (2017) observaram também que, o atraso na vedação elevou os valores de pH na abertura do silo. Segundo Muck (2010), os valores de pH observado nas silagens, e a aerobiose, permitem o crescimento das BAA e além do mais, as bactérias láticas heterofermentativas facultativas também produzem o ácido acético (Pahlow, 2003). Apesar de todos os ácidos formados durante a fermentação contribuírem para redução do pH da silagem, o ácido láctico é o principal responsável por esse processo, por apresentar maior constante de dissociação que os demais, promovendo a queda do pH com mais rapidez (Moisio e Heikonen, 1994). Porém é importante ressaltar que, apesar de todas as diferenças nos parâmetros fermentativos entre os tratamentos, todos possuem boa qualidade fermentativa (McDonald et al., 1991).

Em relação a estabilidade aeróbia, a exposição do material ao ar antes da ensilagem, não influenciou esta variável (em média de 224,45 horas após a exposição aeróbia). Segundo Borreani et al. (2008), as silagens de milho são mais susceptíveis a deterioração aeróbia em tempos quentes. Na desensilagem e durante a exposição para

análise de estabilidade aeróbia, o material permaneceu em temperatura controlada à 25°C, que pode ter prejudicado o crescimento dos microrganismos aeróbios. Chen et al. (2014), descreve que o sucesso da transferência depende da boa qualidade das silagens. E Kung Jr. (2010) relatou que a transferência deve ser feita em dias frescos e o mais rápido possível.

O estágio de maturação da planta no momento da colheita, o tamanho de partícula, o tempo de enchimento e a vedação do silo durante a confecção das silagens, são determinantes para a ocorrência e a gravidade das perdas de MS. Estas perdas, podem variar de 3 a 25% e os principais fatores envolvidos são, a presença de oxigênio (deterioração aeróbia), a produção de CO₂ por microrganismos anaeróbios e as perdas por efluentes (Pitt, 1986).

O crescimento de fungos, leveduras e bactérias durante a deterioração aeróbia das silagens, pode ser considerado como um dos principais fatores que influenciam a qualidade das silagens. Os principais substratos utilizados por estes microrganismos são, os ácidos orgânicos, o etanol e os açúcares solúveis, resultando em aumento do pH e redução na digestibilidade e no conteúdo de energia das silagens (Jobim et al., 2007).

Muitas das leveduras presentes quando o silo é vedado, são apenas microrganismos aeróbicos, suas populações declinam rapidamente quando o oxigênio não está presente. No entanto, algumas leveduras fermentativas, estão normalmente presentes e podem aumentar em número suficiente para afetar a qualidade da silagem (Muck et al., 1992). Esses microrganismos, também consomem os carboidratos solúveis, afetando diretamente a fermentação e a composição final da silagem.

A exposição aeróbia do material antes da ensilagem, conferiu um aumento de 19,4% na contagem de leveduras e de 25,9% na contagem de bactérias totais após a abertura do silo. Brüning et al. (2017), também observaram um aumento na contagem de

leveduras em silagens que tiveram a vedação atrasada por dois dias. As leveduras e fungos, são os principais microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia das silagens de milho (Muck, 1988; Pahlow et al., 2003). Segundo Pahlow et al. (2003), um atraso na vedação promove a proliferação de leveduras e após vedar, esta população acumulada permanece em parte latente até o silo ser aberto para utilização. Pitt (1991) relata que, para ocorrer a deterioração aeróbia, a contagem de leveduras deve ser superior à $9 \log_{10}$ UFC por g^{-1} e a contagem de fungo $8 \log_{10}$ UFC por g^{-1} de silagem. Os valores encontrados na abertura da silagem de todos os tratamentos, estavam abaixo dos valores citados por Pitt (1991). Assim, não houve comprometimento da qualidade das silagens. Após a perda da estabilidade aeróbia, a exposição ao ar não influenciou a contagem microbiológica.

Os fungos, são aeróbios estritos e quando encontrados na silagem, estão mais próximos do local de abertura (Muck, 2010; Dunière et al., 2013) e raramente são vistos na planta verde. Chen e Weinberg (2014) visualizaram fungos quando a contagem foi superior a 3.98×10^6 UFC/g de MN. Esses microrganismos, crescem mais lentamente, quando comparado com outros microrganismos e apesar de crescerem em vários substratos, só aparecem depois que a silagem já foi deteriorada por leveduras e bactérias (Muck, 2010).

Os tratamentos que foram expostos ao ar, obtiveram maiores perdas por gases, sendo que o tratamento de 24 horas de exposição obteve 36,7% mais perdas por gases que o tratamento controle. Isso ocorre, pois o CO_2 é o principal gás liberado na fermentação de silagens e sua produção ocorre por meio do oxigênio residual, através da respiração da planta ensilada ou pela penetração de O_2 na silagem (Pahlow, 2003). Essa perda por gases, é a principal causa da diferença de 5,5% a menos de MS na silagem do tratamento exposto ao ar por 24 horas em relação ao controle. Dessa forma, um menor

teor de MS, proporciona uma menor perda de MS através do efluente, justificando os 30,4% a menos de perda do tratamento exposto ao ar por 24 horas. Muck (1988) observou que, a perda de MS é causada pela respiração, através do consumo dos carboidratos solúveis quando o silo é enchido lentamente. As perdas de matéria seca observadas, podem auxiliar na tomada de decisão, na compra das silagens e no planejamento forrageiro das propriedades.

Brüning et al. (2017) relataram que, atrasar a vedação em 4 dias, levou a perdas de MS de até 11%, um aumento na contagem de leveduras e um declínio de até 65% em carboidratos solúveis nas silagens. Henderson e McDonald (1975), relataram perdas de MS três vezes maiores em silagens que foram seladas após 3 dias do que aquelas obtidas a partir de silos que foram vedados imediatamente. Além disso, eles observaram maiores concentrações de ácido butírico, N-NH₃ e pH e menor teor de ácido láctico.

CONCLUSÃO

A exposição aeróbia do material em até 24 horas antes da ensilagem, reduziu o valor nutritivo e a DIVMS da silagem de milho. Além disso, promoveu maior contagem de microrganismos após a abertura do silo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC International. Arlington, VA.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 2012. Official methods of analysis. 18th ed. AOAC International. Gaithersburg, USA.
- Bernardes, T. F.; Rêgo, A. C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science* 97:1852-1861.
- Borreani, G.; Bernardes, T. F.; Tabacco, E. 2008. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality milk and cheese production chains. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37:68-77.

- Brüning, D. et al. 2017. Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. *Grass and Forage Science* 73:53-66.
- Chen, Y. and Z. G. Weinberg, 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *Journal of Dairy Science* 97:406–410.
- Dunière, L. et al. 2013. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology* 182:1-15.
- 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 & Biotechnology* 33:353-358.
- Henderson, A. R.; McDonald, P. 1975. The effect of delayed sealing on fermentation and losses during ensilage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 26:653-667.
- Hoedtke, S.; Gabel, M.; Zeyner, A. 2010. Der Proteinabbau im Futter während der Silierung und Veränderungen in der Zusammensetzung der Rohproteinfraktion. *Übersichten Tierernährung* 38:157-179.
- Holden, L. A. 1999. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of dairy Science* 82:1791-1794.
- Jobim, C. C., L. G. Nussio, R. A. Reis, and P. Schmidt. 2007. Methodological advances in evaluation of preserved forage quality. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:101–119.
- Kung Jr, L.; Sheperd, A. C.; Smagala, A. M. 1998. The Effect of Preservatives Based on Propionic Acid on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage and a Total Mixed Ration1. *Journal of Dairy Science* 81:1322-1330.
- Lima, E. M.; Gonçalves, L. C.; Keller, K. M.; Rodrigues, J. A. S.; Santos, F. P. C.; Michel, P. H. F.; Raposo, V. S. e Jayme, D. G. 2017. 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.
- McDonald, P. et al. *The biochemistry of silage*. John Wiley & Sons, Ltd., 1981.
- McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. J. E. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd ed. Chalcombe Publications, Bucks, UK.
- Mills, J. A.; Kung Jr, L. 2002. The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. *Journal of Dairy Science* 85:1969-1975.
- Moisio, T. and Heikonen, M. 1994. Lactic acid fermentation in silage preserved with formic acid. *Animal Feed Science and Technology* 47:107-124.
- Muck, R. E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science* 71:2992-3002.
- Muck, R. E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:183–191.
- Pahlow, G. 1991. Role of microflora in forage conservation. p.26-36. In: *Forage conservation towards*. 1.ed. Braunschweig: European Grassland Federation.

- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F. e Spoelstra, S. F. 2003. Microbiology of ensiling. p.31-93. In: Silage Science and Technology. Madison: ASA.
- Pedroso. A. F.; Nussio. L. G.; Loures. D. R. S.; Paziani. S. F.; Ribeiro. J. L.; Mari. L. J.; Zopollatto. M.; Schmidt. P.; Mattos. W. R. S.; Horii. J. 2008. Fermentation losses and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical and bacterial additives. *Scientia Agricola* 65:589- 594.
- Pitt, R. E. 1986. Dry Matter Losses Due to Oxygen Infiltration in Silos. *Journal of Agricultural Engineering Research* 35:193-205.
- Tabacco, E., F. Righi, A. Quarantelli, and G. Borreani. 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.
- Tilley. J. M. A.; Terry. R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society* 18:104-111.
- Van Soest. P. J.; Robertson. J. B.; Lewis. B. A. 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74:3583-3597.
- Velho, J. P.; Mühlbach, P. R. F.; Genro, T. C. M.; Velho, I. M. P. H. e Nörnberg, J. L. 2006. Alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem”. *Ciência Rural* 36:916-923.
- Weinberg. Z. G.; Chen. Y.; Gamburg. M. 2004. The passage of lactic acid bacteria from silage into rumen fluid *in vitro* studies. *Journal of Dairy Science* 87:3386-3397.
- Woolford, M. K. 1990. The detrimental effects of air on silage. *Journal of Applied Bacteriology* 68:101- 116

TABELAS

Tabela 1. Temperatura atingida pela silagem de milho durante a exposição ao ar antes da ensilagem

Variável	Tempo de exposição (h)			
	0	6	12	24
Temperatura (°C)	30	42	45	41

Tabela 2. Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos antes da ensilagem

Variável	Tempo de exposição (h)				EPM ^y	Efeito ^x	
	0	6	12	24		L	Q
Matéria seca (g kg ⁻¹)	280.9	277.0	275.6	265.4	0.63	0.0208	NS
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	31.2	37.4	42.1	37.2	0.32	NS	NS
EE ^z (g kg ⁻¹ MS)	36.5	45.1	45.3	50.8	0.40	0.0258	NS
PB ^z (g kg ⁻¹ MS)	77.9	77.7	80.7	82.8	0.14	0.011	NS
CNF ^z (g kg ⁻¹ MS)	402.2	367.1	338.0	347.9	1.20	0.006	0.0202
FDN ^z (g kg ⁻¹ MS)	452.2	472.7	493.9	481.3	0.85	0.0286	0.021
FDA ^z (g kg ⁻¹ MS)	217.7	231.4	252.5	246.1	0.75	0.0129	NS
DIVMS ^z (g kg ⁻¹ MS)	682.5	663.2	650.3	635.0	0.62	<0.0001	NS

^zCNF, carboidratos não fibrosos; EE, extrato etéreo; FDA, fibra insolúvel em detergente ácido; FDN, fibra insolúvel em detergente neutro; PB, proteína bruta; DIVMS, digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

^yEPM, erro padrão da média.

^xL, linear; Q, quadrático; NS, não significativo.

Tabela 3. Valores de pH, nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total das silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos de exposição antes da ensilagem

Variável	Tempo de exposição (h)				EPM ^y	Efeito ^x	
	0	6	12	24		L	Q
pH	3.53	3.52	3.42	3.65	0.04	0.0313	0.0048
N-NH ₃ /NT ^z (g kg ⁻¹ MS)	58.5	55.2	48.7	69.5	0.33	0.021	0.0023

N-NH₃/NT, nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total.

^yEPM, erro padrão da média.

^xL, linear; Q, quadrático; NS, não significativo.

Tabela 4. Valores de contagem de leveduras, de fungos e de bactérias (log₁₀ ufc/g) de silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos antes da ensilagem

Variável	Tempo de exposição (h)				EPM ^y	Efeito ^x	
	0	6	12	24		L	Q
Contagem microbiológica após a abertura do silo							
Leveduras (ufc g ⁻¹) ^z	5.42	5.63	5.89	6.48	0.17	0.003	NS
Fungos (ufc ⁻¹) ^z	3.14	2.64	2.62	4.59	0.57	NS	NS
Bactérias (ufc g ⁻¹) ^z	5.00	4.92	5.48	6.30	0.27	0.0013	NS
Contagem microbiológica após a perda de estabilidade							
Leveduras (ufc g ⁻¹) ^z	5.88	5.86	5.99	6.42	0.27	NS	NS
Fungos (ufc ⁻¹) ^z	4.84	5.34	6.10	5.55	0.70	NS	NS
Bactérias (ufc g ⁻¹) ^z	4.66	5.88	6.78	6.43	0.65	NS	NS

^zufc g⁻¹, unidades formadoras de colônias por grama de silagem.

^yEPM, erro padrão da média.

^xL, linear; Q, quadrático; NS, não significativo.

Tabela 5. Perdas por gases, por efluentes e perda de matéria seca total de silagens de milho expostas ao ar por diferentes tempos antes da ensilagem

Variável	Tempo de exposição (h)				EPM ^y	Efeito ^x	
	0	6	12	24		L	Q
Perda por gases (% MS)	16.14	17.16	17.26	22.06	2.21	0.0219	NS
Perda por efluente (kg/ton)	33.22	35.70	28.73	23.12	2.44	0.0026	NS
Perda Total de MS (%)	18.97	20.15	19.65	23.87	2.32	NS	NS

^yEPM, erro padrão da média.

^xL, linear; Q, quadrático; NS, não significativo.