

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

Pedro Henrique Fulgêncio Michel

**VALOR NUTRICIONAL DE SILAGENS DE SORGO REENSILADAS COM O USO
DE INOCULANTE MICROBIANO**

BELO HORIZONTE

2019

Pedro Henrique Fulgêncio Michel

Valor nutricional de silagens de sorgo reensiladas com o uso de inoculante microbiano

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientador: Prof. Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte

2019

Michel, Pedro Henrique Fulgêncio 1991 -

M623v Valor nutricional de silagens de sorgo reensiladas com o uso de inoculante microbiano / Pedro Henrique Fulgêncio Michel 2019.
f: il. 68

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Tese (Doutorado) apresentada à UFMG, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal

Inclui bibliografia f. 20 - 28

1 - Nutrição animal - Teses - 2 – Sorgo - silagem – Teses – 3- Digestibilidade - Teses – I – Jayme, Diogo Gonzaga. II – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III – Título.

CDD – 636.085

Bibliotecário responsável Marcio Alves dos Santos CRB 3589/0



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

**Valor nutricional de silagens de sorgo reensiladas com o uso de inoculante
microbiano**

PEDRO HENRIQUE FULGÊNCIO MICHEL

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **vinte e oito de fevereiro de dois mil e dezenove**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas

Gerais, constituída pelos seguintes professores:

Prof. Diogo Gonzaga Jayme
Orientador

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves

Prof. Décio Souza Graça

Prof. Ricardo Reis e Silva

José Avelino dos Santos Rodrigues

Belo Horizonte, 28/02/2019.

Aos meus pais Michel e Dilza e à minha
esposa Adriana, por estarem sempre comigo.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à Nossa Senhora Aparecida pelo Dom da vida e pela força;

Aos meus pais Michel e Dilza pela força e pelas orações;

À minha esposa Adriana pelo amor e companheirismo;

Ao professor Diogo, pela acolhida, apoio e aprendizado;

Ao professor Lúcio pelos diversos ensinamentos;

À EMBRAPA Milho e Sorgo, em especial ao pesquisador Dr. José Avelino (Piu);

Ao Thierry por toda disposição em ajudar;

Ao professor Ricardo por toda a ajuda disponibilizada durante a execução do experimento;

Ao professor Décio pela colaboração e disposição para participar da banca de avaliação;

Aos amigos Eduardo, Vinícius e João Pedro (Pataxó) por todo apoio;

À Escola de Veterinária da UFMG, especialmente ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de aprendizado e aperfeiçoamento profissional;

À CAPES pelo apoio financeiro;

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Toninho, Fabiana e Fioravante;

A todos os integrantes do grupo de Forragicultura e Alimentos pela contribuição na realização deste projeto e pela convivência.

“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje. Mas continue em frente de qualquer jeito. ”

Martin Luther King Jr

RESUMO

O objetivo com este estudo foi determinar o efeito da reensilagem após 24 horas de exposição ao ar e do uso de inoculante (*Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici*) no valor nutricional de silagens de sorgo. Oito carneiros foram distribuídos em dois quadrados latinos 4x4 para a avaliação do consumo, da digestibilidade, do balanço de nitrogênio e do comportamento ingestivo. O ensaio *in situ* foi realizado com quatro vacas da raça Holandês fistuladas no rúmen em blocos ao acaso com esquema de parcelas subdivididas. As médias foram submetidas à análise de interação e caso significativa foi desdobrada. Caso não significativa, os fatores foram comparados separadamente pelo teste de F a 5% de significância. O consumo de proteína bruta foi 21% maior nas silagens sem inoculante. O consumo e a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos foi, em média, 48% e 13% maior, respectivamente, nas silagens sem inoculante e que não foram reensiladas. A digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta foi 9% e 32,5% menor, respectivamente, nas silagens inoculadas. A quantidade de nitrogênio ingerida foi 17,5% menor nas silagens inoculadas. A excreção de nitrogênio na urina e o nitrogênio retido foram 38% e 88% maiores, respectivamente, nas silagens sem inoculante. O tempo de alimentação foi 14% menor e o tempo de ócio foi 10% maior para os animais alimentados com as silagens reensiladas. O desaparecimento da MS e da MO das silagens reensiladas sem inoculante foi 5% e 4,3% maior, respectivamente, que as silagens inoculadas. O desaparecimento da FDN foi 16% maior nas silagens inoculadas e não reensiladas e nas silagens reensiladas foi 8% maior nas silagens sem inoculante. As digestibilidades da MS e da MO após 120 horas de incubação foram 2% maior nas silagens inoculadas e não reensiladas. A digestibilidade da FDN após 120 horas de incubação foi 8% maior nas silagens inoculadas e não reensiladas. Já nas silagens reensiladas, as digestibilidades da MS, da MO e da FDN no tempo máximo de incubação de 120 horas foram 7%, 7% e 8% maiores, respectivamente, nas silagens sem inoculante. A degradabilidade efetiva a 0.02 h⁻¹ da MS, da MO e da FDN foi 2.6%, 2.7% e 19.4% maior, respectivamente, nas silagens com inoculante e não reensiladas. As silagens reensiladas sem inoculante apresentaram degradabilidade efetiva a 0.02 h⁻¹ 4.6%, 4.3% e 8% maior para MS, MO e FDN, respectivamente. A degradabilidade efetiva a 0.05 h⁻¹ da FDN foi 33.7% maior nas silagens inoculadas e não reensiladas. Já as silagens reensiladas, a degradabilidade efetiva da FDN foi 3.5% maior nas silagens sem inoculante. A reensilagem não provoca alterações no consumo e na digestibilidade das silagens, porém promove menor tempo de alimentação e maior tempo de ócio. O uso do inoculante microbiano não melhora o valor nutricional de silagens de sorgo e não influencia o comportamento ingestivo. A ausência do inoculante e da reensilagem promove maior consumo e digestibilidade dos carboidratos não fibrosos das silagens. O inoculante microbiano melhora a degradabilidade de silagens de sorgo convencionais e não apresenta efeito em silagens reensiladas.

Palavras-chave: *Lactobacillus plantarum*, *Propionobacterium acidipropionici*, volumoso, nutrição.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of the re-ensiling and inoculant (*Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici*) in sorghum silages in the intake, digestibility of nutrients, ingestive behavior of sheep and ruminal degradation *in situ*. Treatments were presence/absence of an inoculant (*Lactobacillus plantarum* + *Propionobacterium acidipropionici*) in the silage, and the re-ensiling, or not, of the material after 24 h of exposure to air, and these were tested in a factorial 2 x 2 design. Eight adult sheep were distributed in two balanced and simultaneous 4x4 Latin squares. The *in situ* experiment was conducted with four Holstein rumen fistulated and the experimental design was in randomized blocks with subdivided plots. The incubation periods were 0, 6, 12, 24, 48, 96 and 120 h. The data were subjected to analysis of variance and when interactions were significant, data were decomposed. When the interactions were not significant, the effects of re-ensiling and inoculants were compared separately by the F-test at 5% of significance. Crude protein intake was 21% higher in silages without inoculant. The intake and digestibility of non-fibrous carbohydrates was 48% and 13% higher, respectively, in silages without inoculants and which were not re-ensiled. The digestibility of dry matter and crude protein was 9% and 32.5% lower, respectively, in inoculated silages. The amount of nitrogen ingested was 17.5% lower in the inoculated silages. The excretion of nitrogen in the urine and the retained nitrogen were 38% and 88% higher, respectively, in silages without inoculant. The time spent feeding was 14% lower and the time spent idling was 10% lower for the animals fed with the re-ensiled silages. The degradation of Dry Matter (DM) and Organic Matter (OM) in re-ensiled without inoculant silages was 5% e 4.3% higher, respectively, than re-ensiled silages with inoculant. The degradation of Neutral Detergent Fiber (NDF) was 16% higher in silages that were not re-ensiled and inoculated while in re-ensiled silages the degradation of NDF was 8% higher in silages without inoculant. The degradation rate “c” of NDF was 30% higher in silages that were not re-ensiled and inoculated while in re-ensiled silages the degradation rate “c” of NDF was 25% higher in silages without inoculant. The degradation of DM, OM and NDF after 120 hours of incubation was, respectively, 2%, 2% and 8% higher in silages that were not re-ensiled and inoculated. In the re-ensiled silages, the degradation of DM, OM and NDF after 120 hours of incubation was 7%, 7% e 8% higher, respectively, in silages without inoculant. The effective degradability at 0.02 h⁻¹ of DM, OM and NDF was 2.6%, 2.7% e 19.4% higher, respectively, in silages that were not re-ensiled and inoculated. In the re-ensiled silages, the effective degradability at 0.02 h⁻¹ of DM, OM and NDF was 4.6%, 4.3% e 8% higher, respectively, in silages without inoculant. The effective degradability at 0.05 h⁻¹ of NDF was 33.7% higher in silages that were not re-ensiled and inoculated while in re-ensiled silages while in re-ensiled silages the effective degradability at 0.05 h⁻¹ of NDF was 3.5% higher in silages without inoculant. The re-ensilage, per se, did not causes changes in the consumption and digestibility of the silages, but it promoted less time feeding and more time idling. The use of the microbial inoculant does not improve the intake and digestibility of sorghum silages and does not influence ingestive behavior. The silages without inoculants that were re-ensiled showed higher consumption and digestibility of non-fibrous carbohydrates. The use of microbial inoculants containing *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici* had not effect in re-ensiled silages, but improved the ruminal degradability of conventional sorghum silages silages.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, *Propionobacterium acidipropionici*, roughage, nutrition.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - Reensilagem e aplicação de inoculante microbiano em silagens de sorgo: consumo, digestibilidade dos nutrientes e comportamento ingestivo de ovinos

Tabela 1 - Condições climáticas registradas no período da exposição aeróbia.....	34
Tabela 2 - Composição e características da fermentação das silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	38
Tabela 3 - Consumo de matéria seca e dos nutrientes de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	39
Tabela 4 - Digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	40
Tabela 5 - Balanço de N de ovinos alimentados com silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	41
Tabela 6 - Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	42

CAPÍTULO 3 - Degradabilidade *in situ* dos nutrientes de silagens de sorgo reensiladas com o uso de inoculante microbiano

Tabela 1 - Condições climáticas registradas no período da exposição aeróbia.....	54
Tabela 2 - Composição química (g kg ⁻¹ MS) das silagens de sorgo tratadas com inoculante e reensiladas antes da incubação <i>in situ</i>	55
Tabela 3 - Médias de desaparecimento dos componentes nutricionais (g kg ⁻¹) das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano.....	58
Tabela 4 - Parâmetros de cinética ruminal dos componentes nutricionais das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano.....	60
Tabela 5 - Digestibilidade após 120 horas de incubação ruminal das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano.....	61
Tabela 6 - Degradabilidade efetiva das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano.....	62

Sumário

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	12
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. Estacionalidade de produção forrageira e a ensilagem de sorgo	13
2.2. Consumo, comportamento ingestivo e digestibilidade dos alimentos.....	14
2.3. Exposição de silagens ao ar e a reensilagem.....	17
2.4. Inoculantes microbianos em silagens	19
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
CAPÍTULO 2: REENSILAGEM E APLICAÇÃO DE INOCULANTE MICROBIANO NO VALOR NUTRICIONAL DE SILAGENS DE SORGO E NO COMPORTAMENTO INGESTIVO DE OVINOS.....	30
1. Introdução	31
2. Materiais e métodos	32
2.1. <i>Plantio, colheita e ensilagem</i>	32
2.2. <i>Tratamentos</i>	33
2.3. <i>Animais e design experimental</i>	34
2.4. <i>Análises bromatológicas</i>	35
2.5. <i>Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio</i>	35
2.6. <i>Comportamento ingestivo</i>	36
2.7. <i>Análises estatísticas</i>	37
3. Resultados	37
4. Discussão.....	42
5. Conclusões	45
Referencias.....	45
CAPÍTULO 3: DEGRADABILIDADE RUMINAL <i>IN SITU</i> DOS NUTRIENTES DE SILAGENS DE SORGO REENSILADAS COM O USO DE INOCULANTE MICROBIANO	50
1. Introdução	52
2. Materiais e métodos	53
2.1. <i>Plantio, colheita e ensilagem</i>	53
2.2. <i>Tratamentos</i>	53
2.3. <i>Análises laboratoriais</i>	54
2.4. <i>Procedimentos para a incubação in situ</i>	56
2.5. <i>Análises estatísticas</i>	57

3. Resultados	57
4. Discussão.....	62
5. Conclusão	65
Referencias	65

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A ensilagem é um método de conservação baseado na fermentação anaeróbia em que as bactérias lácticas convertem os carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente em ácido láctico (McDonald et al, 1991). O milho e o sorgo são as principais plantas para a ensilagem em climas tropicais e subtropicais bem como em outros climas. O sorgo se caracteriza por tolerância ao déficit hídrico, às altas temperaturas, alta produtividade de forragem, além de apresentar o rebrote (Weinberg et al., 2011). O cultivo do sorgo é feito principalmente em locais onde é desfavorável o cultivo de milho.

O oxigênio é a causa primária de deterioração de silagens porque permite a atividade de microrganismos indesejáveis, tais como leveduras e fungos, que resulta em perdas de nutrientes (Filya et al., 2006). A oxidação dos carboidratos solúveis e o aumento da proporção de parede celular são os principais efeitos deletérios de ordem nutricional (Velho et al., 2006). A compra de silagens tem sido uma atividade corriqueira nos últimos anos no Brasil em decorrência da falta de chuvas, erros no planejamento alimentar e no processo de confecção das silagens. O comércio em grande escala faz com que na maioria das vezes ocorra a reensilagem do material. A entrada de ar nessas silagens é inevitável e pode comprometer o valor nutritivo. Em função da alta ocorrência da compra e da reensilagem de silagens, alternativas que visem reduzir as prováveis perdas com a preservação do valor nutritivo são de grande importância. Os inoculantes microbianos são amplamente divulgados no mercado e podem ser uma alternativa para silagens expostas ao ar.

Os inoculantes microbianos são compostos por bactérias lácticas que atuam na rápida queda do pH e, em tese, melhoram a fermentação. No entanto, a atividade do ácido láctico em inibir o crescimento de leveduras e fungos é baixa. Para solucionar esse problema, as bactérias propiônicas têm sido adicionadas aos inoculantes porque o ácido propiônico é efetivo no controle desses microrganismos (Zhang et al., 2010). A maioria dos trabalhos com o uso de inoculante microbiano em silagens avaliam a composição bromatológica, as características de fermentação e estabilidade aeróbia. A resposta em produtividade animal quando se utiliza a silagem na dieta depende do consumo e da digestibilidade da forrageira.

As variações no desempenho animal são explicadas em cerca de 60 a 90% pelas variações no consumo (Mertens, 1994). O processo de ensilagem em si pode provocar redução de até 40% na ingestão de matéria seca (Erdman, 1993; Silva et al., 2005). Adicionalmente, a exposição ao

ar pode intensificar esse efeito pelo acúmulo de produtos da degradação e/ou alteração nos componentes voláteis (Gerlach et al., 2013). O estudo do comportamento ingestivo em conjunto com a avaliação de consumo é uma ferramenta de grande importância para a compreensão das prováveis alterações.

A digestibilidade dos alimentos explica de 10 a 40% da variação em desempenho animal e a sua avaliação é importante pelo melhor retorno produtivo que forrageiras mais digestíveis proporcionam (Molina et al., 2002). Dentre várias técnicas para avaliar a digestibilidade dos alimentos, a avaliação *in vivo* é a mais precisa enquanto a técnica de degradabilidade ruminal *in situ* apresenta certas vantagens por ser menos trabalhosa, menos onerosa e por utilizar menor quantidade de amostra (Berchielli et al., 2011).

Tendo em vista o constante uso de silagens reensiladas e o provável efeito positivo do uso de inoculantes nesse material, informações a respeito do consumo, da digestibilidade, da degradabilidade ruminal e do comportamento ingestivo são necessárias. O objetivo com essa revisão é discutir sobre a exposição de silagens ao ar e sobre a utilização de inoculantes microbianos em silagens de sorgo em que serão abordados os aspectos de consumo, de digestibilidade, de degradabilidade ruminal *in situ* e de comportamento ingestivo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Estacionalidade de produção forrageira e a ensilagem de sorgo

A maior parte da produção animal do Brasil é realizada a pasto o que caracteriza a ocorrência de dois períodos bem distintos. O período de primavera/verão marcado por temperaturas mais elevadas, dias longos e chuvosos e o período de outono/inverno caracterizado por escassez de chuvas, baixas temperaturas e dias curtos. A variação climática promove oscilação na quantidade e na qualidade das pastagens formadas por gramíneas tropicais, logo, ocorre variação na oferta de nutrientes para atender as exigências dos animais (Araújo et al., 2012). Uma forma de contornar a falta de alimento durante o período de seca é a utilização de silagens.

A ensilagem consiste em um método de conservação baseado na fermentação anaeróbia em que as bactérias lácticas convertem os carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente em ácido láctico (McDonald et al., 1991). O resultado é que o pH diminui e a forragem é preservada enquanto o oxigênio não penetrar na massa ensilada. A ensilagem é o principal método de conservação de volumoso utilizado no Brasil (Bernardes e Rego, 2014). O

milho e o sorgo são as principais plantas para a ensilagem devido à alta produtividade de massa seca, baixa capacidade tampão e alto teor de carboidratos solúveis.

As vantagens do cultivo do sorgo são a tolerância ao déficit hídrico e às altas temperaturas, a alta produtividade, o baixo custo de produção e a possibilidade de obter um segundo corte após a rebrotação (Weinberg et al., 2011; Teixeira et al., 2014). O cultivo do sorgo é feito principalmente em locais onde o zoneamento agrícola é desfavorável ao cultivo de milho. Nos últimos anos tem crescido o interesse pelo plantio do sorgo em algumas regiões do Brasil por causa da falta das chuvas durante o próprio período chuvoso ocasionado pelas mudanças climáticas.

O conhecimento do valor nutricional da gramínea ensilada é fundamental para a avaliação da qualidade dos alimentos e para a formulação de dietas a fim maximizar o desempenho animal. Apenas a avaliação da composição bromatológica não é suficiente para a determinação do valor nutritivo dos alimentos. O desempenho animal depende também do consumo e da digestibilidade da forrageira. A análise de ambos é a estimativa que mais se aproxima do valor nutritivo verdadeiro dos alimentos (Machado et al., 2011).

2.2. Consumo, comportamento ingestivo e digestibilidade dos alimentos

O consumo voluntário dos alimentos consiste na quantidade de alimento ingerido por um animal durante um período de 24 horas. A ingestão é a determinante da quantidade total de nutrientes que os animais recebem para manutenção, crescimento, produção e reprodução. Além disso, é responsável pela maior parte da diferença entre os alimentos (Silva, 2011).

A determinação do consumo é um importante critério para a formulação de dietas e para o planejamento forrageiro como o cálculo da área necessária de pastagens, o estabelecimento de culturas de milho e sorgo para a ensilagem e o controle de estoques de alimentos (Souza et al., 2003). O desempenho animal é função do consumo de nutrientes, uma vez que cerca de 60 a 90% das variações em desempenho ocorrem devido às variações de consumo (Mertens, 1994; Araújo et al. 2012).

O consumo é regulado naturalmente por mecanismos físicos, metabólicos, neurohormonais e também pela ingestão de água. O consumo está relacionado com as características dos alimentos e com estado fisiológico do animal (Maggioni et al., 2009, Silva, 2011). Quando se trata das características do alimento, o consumo pode ser regulado por fatores físicos e metabólicos. Em regulação metabólica, os animais são alimentados com dietas ricas em energia e com baixo teor de fibra em que a ingestão constante de energia regula o consumo de matéria seca. Na regulação física, a limitação da ingestão ocorre quando o alimento apresenta

grande quantidade de fibra o que reduz a taxa de passagem tornando o compartimento retículo rúmen repleto (Berchielli et al., 2011; Silva, 2011). Diante disso, existe uma importante correlação entre a composição fibrosa e o consumo. O conteúdo de Fibra em detergente neutro (FDN) nos alimentos relaciona-se negativamente com o consumo de matéria seca (Van Soest, 1994).

O processo de ensilagem pode provocar redução de 30 a 40% no consumo potencial (Erdman, 1993; Silva et al., 2005). Essa diminuição é mais evidente em silagens com perfil de fermentação inadequado devido às condições precárias de ensilagem (Silva et al., 2005). A principal característica relacionada a queda no consumo de silagens é o alto teor de nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total devido a fermentação clostridiana dos carboidratos solúveis (Souza et al., 2003). Nas silagens consideradas com bom padrão de fermentação, os valores de nitrogênio amoniacal são inferiores a 10% do nitrogênio total. No entanto, as silagens mal conservadas apresentam teores de nitrogênio amoniacal acima de 15%, o que indica quebra excessiva da fração proteica (Faria Junior et al., 2009). A principal condição para evitar as fermentações indesejáveis é o teor de matéria seca no momento da colheita da forragem. O teor de MS baixo no momento da confecção ocasiona compactação excessiva e leva à fermentação butírica, por isso, segundo McDonald et al. (1991), os teores ideais de matéria seca para obtenção de silagens de boa qualidade estão entre 30 e 35%.

As variações de consumo podem ser melhor explicadas quando, além da composição química do volumoso e/ou dieta, o estudo do comportamento ingestivo é realizado e as informações são correlacionadas (Silva et al. 2016; Peixoto et al., 2018; Silva et al., 2018). O estudo consiste na avaliação visual dos animais por um período de 24 h para determinar os horários e as frequências gastas nas atividades de alimentação, ruminação e ócio (Bastos et al., 2014; Rodrigues et al., 2017).

Os ruminantes alteram o seu comportamento ingestivo em decorrência de alterações metabólicas causadas por certas quantidades de nutrientes ingeridos (Silva et al. 2014; Perazzo et al., 2017). O teor de FDN é o principal fator nutricional que afeta o comportamento ingestivo, pois interfere diretamente no funcionamento ruminal. Segundo Van Soest (1994), o conteúdo de FDN na dieta influencia o tempo gasto com a alimentação e a ruminação. O tempo de alimentação pode ser aumentado inicialmente com o aumento do teor de FDN da dieta, porém é diminuído quando os valores de FDN se elevam. Já o tempo de ruminação é maior quanto maior o teor de FDN da dieta.

O comportamento ingestivo de ruminantes a pasto caracteriza-se por períodos de alimentação que podem variar de 4 a 12 horas por dia. Em animais confinados, os períodos

variam de uma hora, para alimentos ricos em energia, a seis horas, ou mais, para fontes com baixo teor de energia (Burger et al., 2000). A alimentação e a ruminação são os fatores que predominam no comportamento. A literatura mostra que, mesmo com o fornecimento de fibra indigestível, a ruminação não ultrapassa valores de 8 ou 9 h/dia (Burger et al., 2000). Campanilli et al. (2017), em estudo com silagens de sorgo e milho, encontraram maior consumo de FDN para os animais alimentados com silagem de sorgo, porém tempos de alimentação e ruminação semelhantes entre as silagens. Ao somar os tempos de alimentação e ruminação, os animais alimentados com silagem de sorgo mastigaram 1,1 hora a mais. Esses autores relataram um tempo de alimentação total de 115 minutos/dia (1 hora e 55 minutos/dia) e de ruminação de 432 minutos/dia (7 horas e 20 minutos) para os animais alimentados com 20% de silagem de sorgo na MS da dieta.

Além do consumo, a quantidade total de nutrientes disponíveis para o desempenho animal depende da digestibilidade dos alimentos. A digestão é a soma dos processos em que as macromoléculas dos alimentos são degradadas em compostos menores passíveis de absorção no trato gastrointestinal. Segundo Gomes et al. (2006), a digestibilidade do alimento, basicamente, é a sua capacidade de permitir que o animal utilize os seus nutrientes em maior ou menor escala e é considerada um dos principais parâmetros para avaliar um volumoso.

A determinação da digestibilidade desconta a quantidade de nutrientes presentes nas fezes em relação ao total ingerido pelo animal. Contudo, as fezes não contêm somente material indigestível, mas também produtos metabólicos incluindo bactérias e perdas endógenas do metabolismo animal. As digestibilidades da proteína bruta e do extrato etéreo são consideradas aparentes, pois essas frações são liberadas pelo organismo animal. Ao descontar a perda metabólica fecal, obtém-se a digestibilidade verdadeira do alimento que é sempre inferior à digestibilidade aparente. Quanto à fração fibrosa do alimento, a digestibilidade é verdadeira, uma vez que não há produção endógena desse composto no organismo (Berchielli et al., 2011).

A digestibilidade da forragem também interfere na regulação do consumo descrita anteriormente em termos dos fatores físicos e quimiostáticos. As forragens com digestibilidade da matéria seca inferior a 66,7% contribuem para que o fator de enchimento exerça maior influência sobre o consumo. Já as forragens com digestibilidade da matéria seca acima de 66,7% contribuem para que os mecanismos quimiostáticos passem a assumir o papel principal no controle da ingestão do alimento (Oliveira, 1996). Assim como no consumo, a composição fibrosa influencia de forma marcante a digestibilidade, porém os itens relacionados à queda nesta variável são os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (Van Soest, 1994).

A técnica de avaliação de digestibilidade *in vivo* é a mais precisa dentre as várias técnicas para avaliar a digestibilidade dos alimentos (Berchielli et al., 2011). A avaliação da digestibilidade *in vivo* de uma forrageira é importante por causa do melhor retorno produtivo dos animais alimentados com aquelas mais digestíveis (Molina et al., 2002; Machado et al., 2011). A técnica de degradabilidade ruminal *in situ* apresenta certas vantagens por ser menos trabalhosa, menos onerosa e por utilizar menor quantidade de amostra (Berchielli et al., 2011).

A técnica de degradabilidade *in situ* baseia-se na utilização de sacos de náilon dentro do rúmen de animais fistulados. A técnica permite o estudo rápido e simples da digestão dentro deste compartimento bem como da degradabilidade do material em função do tempo de incubação (Berchielli et al., 2011; Pires et al., 2009). No entanto, esta técnica possui algumas limitações, uma vez que, por estar confinado nos sacos de náilon, o alimento não está sujeito ao processo ruminal total. Ou seja, o alimento não passa pelos processos de mastigação, ruminação e não sofre interferência da taxa de passagem. Além disso, o desaparecimento do material durante o tempo de incubação não significa que houve, necessariamente, degradação completa do alimento (Berchielli et al., 2011; Pires et al., 2009).

O modelo de Orskov e McDonald (1979) é o mais utilizado para descrever a degradação potencial (DP):

$$DP = a + b * [1 - \exp^{-ct}]$$

Em que:

- “a” é a fração prontamente solúvel;
- “b” é a fração potencialmente degradável;
- “c” é a taxa constante de degradação da fração potencialmente degradável (b);
- “t” é o tempo de incubação no rúmen;

A avaliação do consumo, da digestibilidade, da degradabilidade ruminal de silagens reensiladas e do comportamento ingestivo de animais alimentados com essas silagens é de grande importância tendo em vista a alta frequência do comércio de silagens nos últimos anos no Brasil em que inevitavelmente as silagens ficam expostas ao ar.

2.3. Exposição de silagens ao ar e a reensilagem

A anaerobiose é fundamental para a qualidade das silagens. A entrada de oxigênio no silo pode favorecer o crescimento de microrganismos deletérios que consomem os carboidratos solúveis e os produtos finais da fermentação. Em resposta, ocorre aumento da temperatura e do pH da massa ensilada caracterizando a deterioração aeróbia (Filya, 2003; Filya et al., 2006). A exposição ao ar das silagens promove perda dos constituintes nutritivos mais digestíveis como

os carboidratos solúveis e o aumento da porção fibrosa (Tabacco et al., 2011). Além disso, a exposição aeróbia pode aquecer as silagens a temperaturas superiores de 40°C, resultar em reações de Maillard e menor digestibilidade da proteína bruta (Weinberg et al., 2011)

Os principais microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia são as leveduras e os fungos (Santos et al., 2013), apesar de algumas bactérias acéticas também participarem. As leveduras atuam no consumo de ácido láctico promovendo, dessa maneira, a elevação do pH da massa ensilada, e também no consumo dos carboidratos solúveis. Em ambos os substratos ocorre produção de CO₂, água e calor. Com o pH mais alto, inicia-se o desenvolvimento de outros microrganismos como os fungos, que irão colaborar com a deterioração aeróbia (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003). O crescimento desses microrganismos, em termos nutricionais, promove a diminuição de fontes energéticas para os ruminantes.

A exposição de silagens ao ar pela transferência desse volumoso entre propriedades tem sido relatada em algumas regiões do mundo como nos Estados Unidos (Erickson et al., 2012) e em Israel (Chen e Weinberg, 2014) com o nome de “relocation”. No Brasil, esta transferência tem sido denominada de reensilagem e foi recentemente estudada (Michel et al., 2017; Lima et al. 2017; Anjos et al., 2018, Coelho et al., 2018). A comercialização de silagens tem sido uma atividade corriqueira nos últimos anos no Brasil e na maioria das vezes o intervalo entre a compra e a reensilagem acontece em um período de um a dois dias. A reensilagem é vantajosa para os produtores que não tem área disponível para plantio e/ou maquinário para plantio e colheita. Adicionalmente, os produtores que tem irrigação ou estão em regiões privilegiadas podem fazer da venda de silagem uma estratégia comercial.

Em um estudo com silagens de milho reensiladas após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar, Lima et al. (2017) não encontraram alterações na composição química, na qualidade da fermentação, na estabilidade aeróbia e na digestibilidade in vitro da matéria seca. Coelho et al. (2018), ao estudarem silagens de milho reensiladas após 36 horas de exposição ao ar, relataram que a reensilagem causou o aumento do pH, das concentrações dos ácidos acético e propiônico, dos teores de matéria seca, de proteína bruta, de fibra em detergente neutro e menor concentração de carboidratos não fibrosos. Além disso, os autores encontraram maior produção de efluentes, maior perda de matéria seca e redução da digestibilidade in vitro da matéria seca no material reensilado. Até então, esses autores foram os que mais relataram alterações em silagens reensiladas frente às silagens convencionais.

Com silagens de sorgo reensiladas após 24 horas de exposição ao ar, Michel et al. (2017) encontraram maior perda de efluentes, menor conteúdo de ácido láctico, maiores teores de ácido acético e propiônico, maior estabilidade aeróbia e menor digestibilidade in vitro nas silagens

reensiladas. Os autores afirmaram que as silagens reensiladas foram 5,35% menos digestíveis, o que, apesar de ser um valor pequeno, implica em um maior custo por unidade de material digestível. Anjos et al. (2018), também com silagens de sorgo, porém reensiladas após 12 horas de exposição ao ar, encontraram maior perda por efluentes e maior concentração de ácido propiônico conforme relatado por Michel et al. (2017). Em contrapartida, Anjos et al. (2018) relataram menor concentração de ácido láctico nas silagens reensiladas e não encontraram diferenças na digestibilidade *in vitro*.

Segundo Gerlach et al. (2013), a exposição ao ar pode intensificar o efeito na queda no consumo pelo acúmulo de produtos da degradação e/ou alteração nos componentes voláteis. Por isso, o uso de inoculantes microbianos pode ser uma alternativa para melhorar a estabilidade aeróbia bem como aumentar a eficiência da fermentação anaeróbia e precisam ser estudados em silagens reensiladas.

2.4. Inoculantes microbianos em silagens

O uso de inoculantes microbianos em silagens no Brasil tem sido bastante comum embora o número de trabalhos que avaliaram o consumo, a digestibilidade e principalmente o desempenho animal seja reduzido (Zopollato et al., 2009). A maioria dos trabalhos avaliam a composição bromatológica, as características de fermentação e a estabilidade aeróbia.

A inoculação de silagens consiste em adicionar microrganismos benéficos que dominem a fermentação, formem produtos finais favoráveis ao consumo, à produção do animal e melhorarem a recuperação de matéria seca da forragem conservada (Kung Junior. et al., 2003; Zopollato et al., 2009). O objetivo é inibir o crescimento de microrganismos anaeróbios indesejáveis como enterobactérias e clostrídeos e de microrganismos aeróbios citados acima associados com a instabilidade aeróbia (Zopollato et al., 2009).

As bactérias lácticas que podem ser utilizadas nos inoculantes comerciais são classificadas em bactérias lácticas homofermentativas, heterofermentativas facultativas e obrigatórias. As bactérias homofermentativas produzem exclusivamente ácido láctico a partir de hexoses, não fermentam pentoses e são menos comuns. As bactérias lácticas heterofermentativas facultativas fermentam uma molécula de glicose em duas moléculas de ácido láctico. Entretanto, também podem fermentar pentoses em ácido láctico, dióxido de carbono e ácido acético quando falta glicose. As bactérias lácticas heterofermentativas obrigatórias fermentam tanto hexoses quanto pentoses em ácido láctico e acético. A fermentação de pentoses resulta nesses dois ácidos em iguais proporções molares por ambas as bactérias lácticas heterofermentativas facultativas e obrigatórias (Arriola et al., 2011; Santos et al., 2013).

As bactérias heterofermentativas facultativas tipicamente usadas em inoculantes para a ensilagem incluem *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus* spp. e *Lactococcus lactis*. Entre essas, a espécie *Lactobacillus plantarum* é a mais utilizada devido seu crescimento vigoroso, tolerância ao meio ácido e ao potencial elevado de produção de ácido láctico (Muck, 2010). Entretanto, silagens com predominância dessas bactérias e acúmulo de ácido láctico podem perder a estabilidade aeróbia mais rápido em função da baixa capacidade antifúngica desse ácido. Além disso, o ácido láctico é um substrato para o crescimento de fungos e leveduras (Arriola et al., 2011; Mohammadzadeh et al., 2012).

Nesse sentido, as bactérias propiônicas podem ser uma alternativa para evitar a deterioração aeróbia, pois utilizam carboidratos solúveis como substrato para produção de ácido propiônico, que é efetivo no controle de fungos e leveduras (Muck, 2010; Zhang et al., 2010). A principal bactéria propiônica que pode ser encontrada nos inoculantes comerciais é a *Propionibacterium acidipropionici*.

A resposta ao uso de inoculantes microbianos depende de muitos fatores, incluindo a população microbiana da planta, a habilidade das bactérias inoculadas crescerem rapidamente, a habilidade de promover adequada fermentação e de sobreviver durante o processo fermentativo, da presença de substrato e da quantidade de bactérias inoculadas (McDonald et al., 1991; Zopollato et al., 2009; Muck, 2010). O consumo de matéria seca aumentou em silagens tratadas com inoculantes em alguns trabalhos (Kung Junior et al., 1993; Kung Junior, 2001). Porém, Silva et al. (2006), não encontraram diferenças no consumo de matéria seca e de nutrientes por novilhos Holandês x Zebu em silagens de milho e de sorgo tratadas com inoculantes contendo bactérias heterofermentativas facultativas. A ausência de efeito do uso de inoculantes no consumo em silagens de sorgo foi relatada também por Rodrigues et al. (2002) com ovinos. O tratamento de silagens de milho com diferentes inoculantes contendo as bactérias *Pediococcus pentosaceus*, *Propionibacteria freudenreichii* e *Lactobacillus buchneri* combinadas ou não, não propiciou diferença no consumo de matéria seca e de nutrientes no trabalho de Arriola et al. (2011). Muck (1993), em revisão de trabalhos que aplicaram inoculantes microbianos reportaram que a aplicação do inoculante aumentou o consumo de matéria seca em aproximadamente 25% dos estudos. Kung Junior et al. (1993) verificaram que nas silagens de milho inoculadas com *Lactobacillus plantarum* ocorreu um aumento de 3,5% o consumo de matéria seca por vacas de leite.

Os estudos que avaliam o comportamento ingestivo em silagens inoculadas são raros. Rêgo et al. (2014) avaliaram o uso de inoculante microbiano em silagens de milho e milheto inoculadas com *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici*. Os autores não

encontraram alterações nas variáveis de comportamento ingestivo em vacas de leite produzindo 15kg de leite/dia devido ao uso do inoculante microbiano. Resultado semelhante foi encontrado por Silva et al. (2018b) com vacas Holandesas produzindo 15kg de leite/dia alimentadas com silagem de milho inoculadas com *Lactobacillus buchneri*. Em contrapartida, Rabelo et al. (2018) em estudo com gado de corte em terminação alimentados com silagem de milho inoculadas com *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus plantarum* e *Bacillus subtilis* + *Lactobacillus plantarum* relataram que houve aumento de 35% no tempo de alimentação nos animais alimentados com as silagens inoculadas. O tempo de ruminação foi 16% maior apenas para os animais alimentados com as silagens inoculadas com *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus plantarum*. Os autores encontraram maior tempo em ócio (9% maior) nas silagens controle em relação àquelas *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus plantarum* e o tempo em ócio foi semelhante entre as silagens controle e inoculadas com *Bacillus subtilis* + *Lactobacillus plantarum*. Apesar dessas diferenças no comportamento ingestivo, os autores não encontraram diferenças no consumo, na digestibilidade, no desempenho e nas características de carcaça.

A digestibilidade dos nutrientes não tem sido alterada pelo uso de inoculantes microbianos (Silva et al., 2006; Correa et al, 2007). Muck (1993) observou melhora na digestibilidade da matéria seca como resultado do uso de inoculantes microbianos em 55% dos estudos revisados. Filya (2003) mostrou que bactérias lácticas homofermentativas e heterofermentativas, não afetaram a degradabilidade *in situ* da matéria seca, da matéria orgânica e da fibra em detergente neutro de silagens de milho, de sorgo e de trigo. Em contrapartida, a literatura sugere que o uso de inoculantes microbianos pode produzir efeitos positivos na digestibilidade, na degradabilidade ruminal e até mesmo no desempenho animal devido a um efeito probiótico no rúmen, um mecanismo que não é conhecido (Kung Junior, 2001; Weinberg et al., 2004). Essa constatação surgiu dos efeitos positivos nessas variáveis mesmo quando o inoculante não alterou significativamente a fermentação da silagem. De fato, a sobrevivência dos microrganismos inoculados no rúmen foi relatada por Weinberg et al. (2003) em que avaliou o uso de vinte inoculantes comerciais utilizados em silagens no fluido ruminal. Uma característica semelhante entre os vinte inoculantes testados foi a presença do *Lactobacillus plantarum* o que pode indicar, apesar de poucas informações, que esse microrganismo tenha alguma ação ruminal.

Em estudos recentes com silagens de sorgo inoculadas com *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici*, Michel et al. (2017) e Anjos et al. (2018) não encontraram efeito do uso do inoculante sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens. Ambos

os autores também avaliaram a adição do inoculantes em silagens reensiladas e não houve efeito na digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Coelho et al. (2018), ao avaliarem silagens de milho inoculadas com os mesmos microrganismos citados acima não encontraram alteração na digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Segundo esses autores, o uso do inoculante em silagens de milho reensiladas não alterou a digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos sobre a exposição de silagens ao ar e a reensilagem de silagens de sorgo, e de milho sobre as variáveis de consumo, comportamento ingestivo, digestibilidade e degradabilidade ruminal ainda são escassos. As silagens de sorgo expostas ao ar e reensiladas tem apresentado menor digestibilidade *in vitro*. Os resultados de consumo, digestibilidade e degradabilidade ruminal em silagens com a adição de inoculante microbiano são inconsistentes. Em relação ao comportamento ingestivo, os trabalhos mostraram semelhança entre silagens com e sem inoculantes. O uso de inoculantes em silagens de sorgo reensiladas não altera a digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Os estudos dessas variáveis em silagens reensiladas e com a adição de inoculantes são necessários.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANJOS, G. V. S.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; COELHO, M. M.; MICHEL, P. H. F.; OTTONI, D.; JAYME, D. G. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 6047 – 6054, 2018.

ARAÚJO, L. M.; ALVES, D. D.; PORTO, E. M. V.; SOARES, F. D. S.; SIMÕES, D. A.; SILVA, M. V. L.; SILVA, M. F.; DAVID, A. M. S. S. Desempenho produtivo e comportamento ingestivo de ovinos submetidos a diferentes estratégias de suplementação. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 10, n. 2, p. 137-146, 2012.

ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; STAPLES, C. R.; ADESOGAN, A. T. Effect of applying bacterial inoculants containing different types of bacteria to corn silage on the performance of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 3973–3979, 2011.

BASTOS, M. P. V.; CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, R. R.; EUSTÁQUIO FILHO, A.; SANTOS, E. J.; CHAGAS, D. M. T.; BARROSO, D. S.; ABREU FILHO, G.

Ingestive behavior and nitrogen balance of confined Santa Ines lambs fed diets containing soybean hulle. **Journal of Animal Science**, v. 27, n. 1, p. 24-29, 2014.

BERCHIELI, T. T.; VEJA-GARCÍA, A.; OLIVEIRA, S. G. principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. Cap. 14, p. 415-438.

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

CAMPANILI, P. R. B.; SARTURI, J. O.; BALLOU, M. A.; TROJAN, S. J.; SUGG, J. D.; OVINGE, L. A.; ALRUMAIH, A. U.; PELLARIN, L. A.; HOFFMAN, A. A. Effects of silage type and inclusion level on ruminal characteristics and feeding behavior of steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 10, p. 4623–4637, 2017.

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

BURGER, P. J.; PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; SILVA, J. F. C.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; CASALI, A. D. P. Comportamento ingestivo em bezerros Holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 236-242, 2000.

COELHO, M. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; ANJOS, G. V. S.; OTTONI, D.; MICHEL, P. H. F.; JAYME, D. G. 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.

CORREA, R. A.; SILVA, L. D. F.; BETT, V.; CASTRO, V. S.; RIBEIRO, E. L. A.; BERAN, F. H. B.; ROCHA, M. A.; EZEQUIEL, J. M. B.; MASSARO JUNIOR, F. L. Intake and digestibility of some nutritional components of sorghum silage (*Sorghum bicolor* L. Moench) with or without additives in sheep. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 151-158, 2007.

ERDMAN, R. Silage fermentation characteristics affecting feed intake. In: National silage production conference, Syracuse, 1993, Syracuse. **Proceedings...** Syracuse: NRAES-67, 1993. p.210.

ERICKSON, P. S.; WHITEHOUSE, N. L.; SPANGLERD. A. Case study: Adding a bacterial inoculant to corn silage removed from a bunker silo and stored in piles. **The Professional Animal Scientist**, v. 28, p. 244–247, 2012.

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

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 1080-1086, 2003.

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. **Journal Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 353-358, 2006.

GOMES, S. P.; LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F. Consumo, digestibilidade e produção microbiana em novilhos alimentados com diferentes volumosos, com e sem suplementação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 884-892, 2006.

GERLACH, K.; ROB, F.; WEIB, K.; BÜSCHER, W.; SÜDEKUM, K. H. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. **Agricultural and Food Science**, v. 22, p. 168-181, 2013.

KUNG JUNIOR, L.; CHEN, J. H.; KRECK, E. M.; KNUTSEN, K. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3763–3770, 1993.

KUNG JUNIOR., L. Silage fermentation and additives. In: Science and technology in the feed industry, 17., 2001, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p. 145-159, 2001.

KUNG JUNIOR., L.; STOKES, M. R.; LIN, C. J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p. 305-360.

LIMA, E. M.; GONÇALVES, L. C.; KELLER, K. M.; RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. P. C.; MICHEL, P. H. F.; RAPOSO, V. S.; JAYME, D. G. 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**, v. 97, n. 2, p. 250-257, 2017.

MACHADO, F. S.; RODRÍGUEZ, M. N.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; RIBAS, M. N.; PÔSSAS, F. P.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; JAYME, D. G.; PEREIRA, L. G. R. Consumo e digestibilidade aparente de silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, 2011.

MACHADO, F. S.; RODRÍGUEZ, M. N.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; RIBAS, M. N.; PÔSSAS, F. P.; JAYME, D. G.; PEREIRA, L. G. R.; CHAVES, A. V.; TOMICH, T. R. Energy partitioning and methane emission by sheep fed sorghum silages at different maturation stages. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 790-800, 2015.

MAGGIONI, D; MARQUES, J.A; ROTTA, P. P.; ZAWADZK, F.; ITO, R. H; PRADO, I. N. Ingestão de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 4, p. 963-974, 2009.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. 2^a ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340p.

MERTENS, D.R. **National conference on forage quality, evaluation and utilization**. Madison: University of Nebraska, p.828-868, 1994.

MICHEL, P.H.F.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; KELLER, K.M.; RAPOSO, V.S.; LIMA, E.M.; SANTOS, F.P.C.; JAYME, D.G. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. **Grass and Forage Science**, v. 72, n. 3, p. 432-440, 2017.

MOLINA, L.R.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; SOUZA, B. M.; RODRIGUES, J. A. S.; LARA, A. C. Degradabilidade in situ da matéria seca e da proteína bruta das silagens de seis genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), com e sem tanino no grão, ensilados no estádio de grão farináceo. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 39, p. 233-237, 2002.

MOHAMMADZADEH, H.; KHORVASH, M.; GHORBANI, G. R.; YANG, W. Z. Frosted corn silage with or without bacterial inoculants in dairy cattle ration. **Livestock Science**, v. 145, p. 153–159, 2012.

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

MUCK, R.E. **The role of silage additives in making high quality silage**. New York: Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service, n.67, p.106-116, 1993.

OLIVEIRA, F. R. Alternativas de alimentação para a pecuária no semi-árido nordestino. In: Simpósio Nordeste de Alimentação de Ruminantes, 1996, Natal. **Anais...** Natal: SNPA, 1996, p.127-147.

PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. W. H. O.; SPOELSTRA, S. F. Microbiology of ensiling. In: BUXON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. **Silage science and technology**. Madison: ASA, 2003. Cap. 2, p. 31-93.

PEIXOTO, E. L.T.; MIZUBUTI, I. Y.; SALES, E. P.; PIMENTEL, P.G; PRADO-CALIXTO, O. P.; SILVA, L. D. F.; NEUMANN, M.; RIBEIRO, E. L. A.; MOURA, E. S.; MASSARO JÚNIOR, F. L. Diets for sheeps whit levels of residual frying oil consequences on ingestive behavior. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 1, p. 383-392, 2018.

PERAZZO, A. F.; HOMEM NETO, S. P.; RIBEIRO, O. L.; SANTOS, E. M.; CARVALHO, G. G. P.; OLIVEIRA, J. S.; BEZERRA, H. F. C.; CAMPOS, F. S.; FREITAS JUNIOR, J. E. Intake and ingestive behavior of lambs fed diets containing ammoniated buffel grass hay. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, n. 4, p. 717-724, 2017.

RABELO, C. H. S.; VALENTE, A. L. S.; BARBERO, R. P.; BASSO, F. C.; REIS, R. A. Performance of finishing beef cattle fed diets containing maize silages inoculated with lactic-acid bacteria and *Bacillus subtilis*. **Animal Production Science**, v. 59, n. 2, p. 266-276, 2018.

RÊGO, A. C.; OLIVEIRA, M. D. S.; SIGNORETTI, R. D.; DIB, V.; ALMEIDA, G. B. S. Comportamento ingestivo de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milheto ou milho. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4, p. 1149-1157, 2014.

RODRIGUES, P. H. M.; SENATORE, A. L.; LUCCI, C. S.; ANDRADE, S. J. T.; LIMA, F. R.; MELOTTI, L. Valor nutritivo da silagem de sorgo tratada com inoculantes enzimizomicrobianos. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 4, p. 1141-1145, 2002.

RODRIGUES, T. V. G. C.; CARVALHO, G. G. P.; ARAÚJO, G. G. L.; SANTOS, E. M.; FREITAS, P. M. D.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; ARAÚJO, F. L.; PERAZZO, A. F. Correlations of the feeding behavior of lambs fed diets containing pearl millet silage with addition of urea. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 5, p. 3295-3306, 2017

SANTOS, A. O.; ÁVILA, C. L. S.; SCHWAN, R. F. Selection of tropical lactic acid bacteria for enhancing the quality of maize silage. **Journal of Dairy Science**, v. 96, 7777-7789, 2013.

SILVA, A. L. N.; SILVA, R. R.; CARVALHO, G. G. P.; SILVA, F. F.; LINS, T. O. J. D. A.; ZEOULA, L. M.; FRANCO, S. L.; SOUZA, S. O.; PEREIRA, M. M. S.; BARROSO, D. S. Correlation between ingestive behaviour, intake and performance of grazing cattle supplemented with or without própolis extract (LLOS®). **Journal of Agricultural and Crop Research**, v. 2, n.1, p. 1-10, 2014.

SILVA, A. V.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; GARCIA, R.; CECON, P. R.; FERREIRA, C. L. L. F. Composição bromatológica e digestibilidade in vitro da matéria seca

de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 1881-1890, 2005.

SILVA, A. V.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; GARCIA, R.; CECON, P. R.; FERREIRA, C. L. L. F. Consumo e digestibilidades dos nutrientes em bovinos recebendo dietas contendo silagens de milho e sorgo, com e sem inoculante microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2469-2478, 2006.

SILVA, J. F. C. Mecanismos reguladores de consumo. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. Cap. 3, p. 61-83.

SILVA, J.; WINCKLER, J. P. P.; PASETTI, M. H. O.; SALVO, P. A. R.; KRISTENSEN, N. B.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Effects of *Lactobacillus buchneri* inoculation or 1-propanol supplementation to corn silage on the performance of lactating Holstein cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 7, p. 591-598, 2017.

SILVA, P. A.; CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; SANTOS, S. A.; PINA, D. S.; SILVA, R. R.; RODRIGUES, C. S.; MATOS, L. H. A.; EIRAS, C. E.; EIRAS, D. N.; NUNES, W. S. Feeding behavior of feedlot lambs fed diets containing levels of cassava wastewater. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 4, p. 721-726, 2018.

SILVA, R.V.M.M., CARVALHO, G.G.P., PIRES, A.J.V., PEREIRA, M.L.A., PEREIRA, L., CAMPOS, F.S., PERAZZO, A.F., BEZERRA, L.S., MOREIRA, J.V., RUFINO, L.M. A. Nitrogen balance, microbial protein synthesis and ingestive behavior of lambs fed diets containing cottonseed cake in substitution of soybean meal. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 2155-2166, 2016.

SOUZA, V. G.; PEREIRA, O. G.; MORAES, S. A.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C.; ZAGO, C. P.; FREITAS, E. V. V. Valor nutritivo de silagens de sorgo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 3, p. 753-759, 2003.

TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A.; BORREANI, G. 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**, v. 94, p. 1409-1419, 2011.

TEIXEIRA, A. M.; RIBEIRO JUNIOR, G. O.; VELASCO, F. O.; FARIA JÚNIOR, W. G.; RODRÍGUEZ, N. M.; RODRIGUES, J. A. S.; McAllister, T.; GONÇALVES, L. C. Intake and digestibility of sorghum (*Sorghum bicolor*, L. Moench) silages with different tannin contents in sheep. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, n. 1, p. 14-19, 2014.

VAN SOEST, P. J. 1994. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, New York.

VELHO, J. P.; MÜHLBACH, P. R. F.; GENRO, T. C. M. SANCHEZ, L. M. B.; NÖRNBERG, J. L.; ORQIS, M. G.; FALKENBERG, J. R. Alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem”. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p.916-923, 2006.

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

WEIBERBERG, Z.G.; CHEN, Y.; GAMBURG, M. The passage of lactic acid bacteria from silage into rumen fluid, in vitro studies. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.10, p.3386-3397, 2004.

ZHANG, C.; BRANDT, M. J.; SCHWAB, C.; GÄNZLE, M. G. Propionic acid production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. **Food Microbiology**, v. 27, p. 390-395, 2010.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, supl. especial, p.170-189, 2009.

**CAPÍTULO 2: REENSILAGEM E APLICAÇÃO DE INOCULANTE MICROBIANO
NO VALOR NUTRICIONAL DE SILAGENS DE SORGO E NO
COMPORTAMENTO INGESTIVO DE OVINOS**

Reensilagem e aplicação de inoculante microbiano em silagens de sorgo: consumo, digestibilidade dos nutrientes e comportamento ingestivo de ovinos

Resumo - A reensilagem e o uso de inoculantes microbianos têm sido práticas comuns no Brasil e no mundo. Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante microbiano em silagens de sorgo no consumo, na digestibilidade e no comportamento ingestivo de ovinos. O uso ou não de inoculante microbiano (*Lactobacillus plantarum* + *Propionobacterium acidipropionici*) na ensilagem e a reensilagem ou não do material após 24 horas de exposição ao ar foram testados em um esquema fatorial 2 x 2. Oito carneiros adultos foram distribuídos em dois quadrados latinos 4x4 balanceados e simultâneos. O consumo, a digestibilidade, o balanço de nitrogênio e o comportamento ingestivo foram avaliados. O consumo de proteína bruta foi 21% maior nas silagens sem inoculante ($p<0.05$). O consumo e a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos foi, em média, 48% e 13% maior, respectivamente, nas silagens sem inoculante e que não foram reensiladas ($p<0.001$). A digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta foi 9% e 32,5% menor, respectivamente, nas silagens inoculadas ($p<0.05$). A quantidade de nitrogênio ingerida foi 17,5% menor nas silagens inoculadas ($p<0.01$). A excreção de nitrogênio na urina e o nitrogênio retido foram 38% e 88% maiores, respectivamente, nas silagens sem inoculante ($p<0.01$). O tempo de alimentação foi 14% menor e o tempo de ócio foi 10% maior para os animais alimentados com as silagens reensiladas ($p<0.01$). A reensilagem, per se, não provocou alterações no consumo e na digestibilidade das silagens, porém promoveu menor tempo de alimentação e maior tempo de ócio. O uso do inoculante microbiano não melhora o consumo e a digestibilidade de silagens de sorgo e não influencia o comportamento ingestivo. As silagens sem inoculante que foram reensiladas apresentaram maior consumo e digestibilidade dos carboidratos não fibrosos.

Palavras-chave: *Lactobacillus plantarum*, *Propionobacterium acidipropionici*, volumoso, nutrição.

1. Introdução

A ensilagem é um importante método de conservação de volumoso utilizado no mundo. No Brasil é o principal método de conservação de volumoso utilizado (Bernardes e Rêgo, 2014). O sorgo é a segunda planta mais destinada para esse fim e apresenta como principal característica agrônômica a resistência ao déficit hídrico.

A compra de silagens tem sido uma atividade corriqueira nos últimos anos no Brasil. O comércio em grande escala faz com que na maioria das vezes ocorra a reensilagem do material na fazenda. Essa prática foi recentemente estudada no Brasil (Michel et al., 2017; Lima et al. 2017; Anjos et al., 2018) e também em outras partes do mundo como em Israel (Chen e Weinberg, 2014). Porém, o valor nutritivo das silagens reensiladas pode ficar comprometido devido à exposição das silagens ao ar. A entrada de oxigênio na massa ensilada favorece o crescimento de leveduras e fungos que consomem os carboidratos solúveis, dessa maneira, a proporção de componentes fibrosos da silagem aumenta (Tabacco et al., 2011; Wilkinson e Davies, 2012). A utilização de inoculantes microbianos pode ser uma alternativa para minimizar os danos da exposição ao ar. Para isso, além da bactéria heterofermentativa facultativa *Lactobacillus plantarum*, é necessário que os inoculantes contenham outras bactérias como as bactérias propiônicas, pois o ácido propiônico é mais eficaz no controle de leveduras e fungos (Zhang et al., 2010).

O consumo e a digestibilidade são as principais variáveis que influenciam o desempenho animal. A análise de ambos é a estimativa que mais se aproxima do valor nutritivo verdadeiro dos alimentos. Adicionalmente, o estudo do comportamento ingestivo é uma ferramenta de grande importância para a compreensão do consumo de alimentos. Os trabalhos conduzidos com silagens expostas ao ar e reensiladas ainda não produziram informações sobre consumo, digestibilidade e variáveis comportamentais. A maioria dos trabalhos com o uso de inoculante microbiano em silagens avaliou a composição bromatológica, as características de fermentação e a estabilidade aeróbia. Desta forma, objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante contendo *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici* no consumo, na digestibilidade *in vivo* dos nutrientes e no comportamento ingestivo de ovinos alimentados com silagens de sorgo.

2. Materiais e métodos

2.1. Plantio, colheita e ensilagem

A lavoura de sorgo do cultivar BRS 655 foi plantada em área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, situada em Sete Lagoas- Minas Gerais com latitude 19°28'S, longitude 44°15'W e altitude de 732 metros. O espaçamento utilizado foi de 70 cm entrelinhas e a adubação de plantio foi feita com 400 kg/ha de 8-28-16 (NPK) + 0,5% Zn. Decorridos 35 dias após o plantio, foi aplicado 100 kg de nitrogênio por hectare em cobertura.

A colheita aconteceu no estágio leitoso/pastoso de maturação do grão. A lavoura foi colhida e picada entre um e dois centímetros utilizando uma colheitadeira de forragem convencional. A forragem foi ensilada em tambores metálicos com capacidade de armazenamento de 200L revestidos internamente com sacos plásticos. Após o enchimento, os silos experimentais foram fechados com as tampas e vedados com auxílio de lacres metálicos.

2.2. Tratamentos

Os tratamentos foram a aplicação de um inoculante microbiano no momento da ensilagem e a reensilagem do material após 24 horas de exposição ao ar. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2 x 2. O primeiro fator consistiu na aplicação ou não do inoculante e o segundo na conservação por meio de silagem convencional ou a realização da reensilagem.

O inoculante utilizado foi composto pela bactéria heterofermentativa facultativa *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U e da bactéria propiônica *Propionibacterium acidipropionici* MA26/4U na quantidade de $2,5 \times 10^{10}$ Unidades Formadoras de Colônia por grama de produto (UFCg⁻¹) para cada microrganismo (Biomax Milho; Lallemand, Saint-Simon, França). A aplicação ocorreu no momento da ensilagem. O produto foi diluído em água na proporção de um grama por litro. Dois litros da mistura, conforme recomendações do fabricante foram pulverizados com auxílio de pulverizador costal sobre o material de maneira uniforme e com mistura constante. Os demais tratamentos receberam apenas água na mesma proporção daqueles que foram tratados com o inoculante.

A reensilagem foi realizada após 56 dias da ensilagem de forma que os silos foram abertos, o material desensilado e reensilado após 24 horas de exposição ao ar. Esse procedimento ocorreu em galpão na Embrapa Milho e Sorgo com início às oito horas da manhã do dia 23 de abril de 2014 e término às oito da manhã do dia seguinte. As condições climáticas registradas no período da exposição aeróbia foram obtidas na estação meteorológica da Embrapa Milho e Sorgo (Tabela 1).

Tabela 1

Condições climáticas registradas no período da exposição aeróbia

Data	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Temperatura média (°C)	Precipitação (mm)	Insolação (horas)
23/04/2014	28.60	18.60	23.26	0.00	3.20
24/04/2014	25.00	18.70	20.84	0.00	0.00

Após a reensilagem o material foi transferido para o Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal da Escola de Veterinária da UFMG (EV/UFMG) em Belo Horizonte, Minas Gerais para as avaliações de consumo e digestibilidade.

2.3. Animais e design experimental

Os procedimentos experimentais com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG) (no.191/2011). Oito carneiros adultos, machos e com peso médio de 49 kg foram distribuídos em dois quadrados latinos 4x4 balanceados e simultâneos. Antes de iniciar o experimento os carneiros foram tosquiados, casqueados, vermifugados e vacinados.

Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais de dimensões 1,50 x 0,80m e fixadas a uma altura do solo de 0,6 metros. As gaiolas foram confeccionadas em cantoneira de ferro com piso ripado de madeira, revestidas lateralmente com placas de acrílico finas e transparentes. As gaiolas foram apropriadas para a coleta de urina e fezes simultaneamente e possuíam bebedouro, comedouro de aço inoxidável e saleiro de polietileno. O galpão e as gaiolas foram higienizados diariamente.

O primeiro período experimental consistiu de uma adaptação dos animais às gaiolas e à alimentação de 30 dias seguido por um período para coleta de amostras de sete dias. Os demais períodos consistiram de sete dias de adaptação e sete dias de coleta. As silagens foram fornecidas duas vezes ao dia (7:00 e 15:00 horas) em quantidade suficiente para obter aproximadamente 10% de sobras no cocho. A água e a mistura mineral foram fornecidas *ad libitum*. As quantidades de silagens (oferecidas e sobras) foram mensuradas diariamente durante todo o período experimental, enquanto as produções de fezes e de urina foram mensuradas somente nos períodos de coleta.

As silagens oferecidas, as sobras no cocho, as fezes e a urina foram amostradas durante as coletas. Para cada tratamento foi coletado aproximadamente 1 kg por dia do material

oferecido aos carneiros. Simultaneamente, cinco tambores de cada tratamento foram amostrados para a obtenção de vinte amostras do oferecido e a seguinte análise estatística. As sobras foram recolhidas pela manhã, pesadas e armazenadas por animal. As fezes foram pesadas e submetidas à coleta total. O volume diário de urina excretado por cada animal foi mensurado e uma amostra equivalente a 20% do volume total foi retirada. A urina foi coletada por meio de funis acoplados às gaiolas e captada por baldes cobertos com telas metálicas para a separação das fezes e demais impurezas. Nos baldes coletores de urina foi adicionado diariamente 100mL de HCl 2N para não haver perda de nitrogênio urinário por volatilização ou decomposição. As fezes foram coletadas por meio de caixas plásticas dispostas abaixo dos funis.

As amostras (oferecido, sobras, fezes e urina) foram armazenadas em câmara fria à -17°C. Após o término das coletas foi feito um pool para obtenção das amostras compostas por coleta. As amostras compostas permaneceram estocadas a -17°C até a devida manipulação para as análises laboratoriais.

2.4. *Análises bromatológicas*

As amostras, exceto as amostras de urina, foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. Logo após, foram processadas em moinho com peneira de um mm e utilizadas para determinação do teor de matéria seca (MS) a 105°C, cinzas, nitrogênio total ou proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) segundo AOAC (2007). Os componentes da parede celular foram obtidos pelo método sequencial (fibra em detergente neutro – FDN, fibra em detergente ácido – FDA e lignina), conforme Van Soest et al. (1991) utilizando um analisador de fibras Ankom²⁰⁰ (Ankom Technology Corp, Fairport, NJ). A enzima Amilase termoestável (Termamyl 2x, Novozymes A/S, Krogshoejvej, Bagsvaerd) foi adicionada na proporção de 0,5 mL por amostra durante as análises de FDN.

Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de cinzas e PB para obtenção dos valores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA). Esses valores foram usados para corrigir a FDN e a FDA para cinzas e proteína (FDN_{cp} e FDA_{cp}). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados usando a equação de Weiss (1999): $CNF = 100 - (\% FDN_{cp} + \% PB + \% EE + \% Cinzas)$.

2.5. *Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio*

O peso diário das silagens oferecidas e das sobras, durante o período experimental e as análises laboratoriais foi utilizado para o cálculo do consumo de matéria seca e dos nutrientes.

O consumo de matéria seca (CMS) foi determinado segundo a equação:

$$\text{CMS} = \text{kgOF} - \text{kgSO}$$

Em que: kgOF = quantidade de dieta oferecida, em kg de MS; kgSO = quantidade de sobras retiradas, em kg de MS.

Os consumos dos nutrientes foram determinados segundo a equação:

$$\text{Consumo} = [(\text{kgOF} \times \% \text{OF})/100] - [(\text{kgSO} \times \% \text{SO})/100]$$

Em que: kgOF = quantidade de dieta oferecida, em kg de MS; %OF = concentração do nutriente na dieta oferecida, em % da MS; kgSO = quantidade de sobras retiradas, em kg de MS; %SO = concentração do nutriente nas sobras, em % da MS.

Os dados de consumo e produção fecal foram utilizados para a avaliação da digestibilidade conforme metodologia utilizada por Maynard et al. (1984), segundo a equação:

$$\text{DA} = \frac{(\text{NC} - \text{NF}) \times 100}{\text{NC}}$$

Em que: NC = nutriente consumido, em kg de MS; NF = nutriente nas fezes, em kg de MS.

O balanço de nitrogênio (BN), ou nitrogênio retido, em g por dia foi calculado pela equação:

$$\text{BN} = \text{NI} - (\text{NF} + \text{NU})$$

Em que: NI = nitrogênio ingerido, em g por dia; NF = nitrogênio fecal, em g por dia; NU = nitrogênio urinário, em g por dia.

2.6. *Comportamento ingestivo*

O ensaio de comportamento ingestivo foi realizado no primeiro dia de cada período de coleta. Os animais foram avaliados visualmente de cinco em cinco minutos durante 24 horas, totalizando 288 observações. As avaliações consistiram em verificar se o animal estava ingerindo alimento, ruminando, em ócio ou realizando outra atividade. Durante as avaliações os animais foram mantidos sob iluminação artificial.

Ao longo da avaliação foram realizadas três avaliações por animal dos números de mastigações meréricas por bolos ruminal. Os períodos de avaliação foram de 10:00 às 12:00 horas; 17:00 às 19:00 horas; e 21:00 às 23:00 horas (h), totalizando nove avaliações por animal. O tempo despendido na ruminação para cada bolo ruminal (segundos/bolo) também foi mensurado com a utilização de um cronômetro digital.

As variáveis de comportamento alimentar dos ovinos foram obtidas de acordo com Bürger et al. (2000). Já o número de mastigações por bolos ruminal e o tempo gasto ruminando para cada bolo ruminal foram determinadas de acordo com Polli et al. (1995).

2.7. *Análises estatísticas*

O delineamento estatístico foi dois quadrados latinos 4x4 balanceados e simultâneos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5% de significância ($P < 0,05$). As médias foram submetidas à análise de interação e caso significativa foi desdobrada. Caso não significativa, os fatores foram comparados separadamente pelo teste de F a 5% de significância.

3. Resultados

Houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para as variáveis teor MS e CNF das silagens oferecidas aos ovinos (Tabela 2). A análise de desdobramento da utilização ou não do inoculante dentro do fator silagem ou reensilagem mostrou que o teor de MS foi, em média, 7% maior e o de CNF foi 24% maior para as silagens sem inoculante quando não foram reensiladas. As demais variáveis de composição bromatológica e de fermentação das silagens não foram influenciadas pelos tratamentos.

Tabela 2

Composição e características da fermentação das silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas

	Tratamentos				EPM	Valor de P		
	Controle		LP + PA			I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS (g/kg)	260.7	242.3	242.4	246.4	2.51	0.09	0.09	0,01
Cinzas (g/kg)	45.5	47.5	45.1	44.6	1.19	0.48	0.74	0.60
PB (g/kg)	77.0	73.1	69.3	70.5	1.26	0.07	0.62	0.35
FDN (g/kg)	587.6	655.4	637.7	638.3	10.74	0.40	0.09	0.10
FDNcp (g/kg)	544.8	614.8	598.0	593.6	10.65	0.42	0.11	0.07
FDA (g/kg)	334.4	358.8	344.4	364.0	6.99	0.62	0.17	0.88
FDAcp (g/kg)	305.1	320.2	317.3	332.2	6.77	0.44	0.34	0.99
LIG (g/kg)	60.9	61.7	64.8	63.1	2.15	0.58	0.92	0.79
EE (g/kg)	38.9	44.2	49.6	41.5	2.84	0.37	0.75	0.15
CNF (g/kg)	293.8	220.4	238.1	249.8	10.99	0.48	0.11	0,04
pH	4.09	4.04	3.84	3.99	0.41	0.10	0.55	0.24
N-NH ₃ /NT(g/kg)	127.5	164.0	158.5	153.9	5.77	0.35	0.16	0.08

LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem; MS, matéria seca; PB, proteína bruta; FDN, fibra em detergente neutro; FDNcp, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas; FDA, fibra em detergente ácido; FDAcp, fibra em detergente ácido corrigido para cinzas e proteínas; LIG, lignina; EE, extrato etéreo; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

O teor de FDN variou de 58,76 a 65,54% e o de FDNcp de 54,48 a 61,48%. Os menores valores foram encontrados nas silagens sem inoculante e que não foram reensiladas. Assim como os maiores valores foram encontrados nas silagens reensiladas sem inoculante. Em média, foram 6,89 unidades percentuais a menos no teor de fibra nas silagens que não foram reensiladas e sem inoculante. Isso levou a uma tendência ($p < 0,10$) para o menor teor de FDN nas silagens que não foram reensiladas.

Não houve alteração no consumo de MS por unidade de tamanho metabólico devido ao uso do inoculante e da reensilagem (Tabela 3). O consumo de proteína bruta foi 21% maior nas silagens sem inoculante e a reensilagem não alterou o consumo desta variável. Houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para o consumo de CNF. O consumo de CNF foi 48%

maior nas silagens sem inoculante e que não foram reensiladas. As demais variáveis não foram influenciadas pelos tratamentos.

Tabela 3

Consumo de matéria seca e dos nutrientes de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas

	Tratamentos					Valor de P		
	Controle		LP + PA		EPM	I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS (g/kg PV ^{0.75} /d)	54.68	52.17	51.54	50.29	1.68	0.28	0.41	0.78
MO (g/kg PV ^{0.75} /d)	52.07	49.68	49.21	48.06	1.60	0.29	0.40	0.76
PB (g/kg PV ^{0.75} /d)	4.40	3.81	3.24	3.53	0.16	0.01	0.56	0.10
FDN (g/kg PV ^{0.75} /d)	31.67	34.40	32.44	32.57	1.26	0.78	0.47	0.51
FDNcp (g/kg PV ^{0.75} /d)	29.34	32.11	30.36	30.42	1.19	0.85	0.44	0.46
FDA (g/kg PV ^{0.75} /d)	18.60	18.52	17.20	18.47	0.77	0.66	0.71	0.68
FDAcp (g/kg PV ^{0.75} /d)	17.03	16.40	15.94	16.93	0.72	0.85	0.90	0.59
CNF (g/kg PV ^{0.75} /d)	16.66	10.51	11.22	11.93	0.61	0.02	<0.01	<0.001

LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem; MS, matéria seca; PB, proteína bruta; FDN, fibra em detergente neutro; FDNcp, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas; FDA, fibra em detergente ácido; FDAcp, fibra em detergente ácido corrigido para cinzas e proteínas; LIG, lignina; EE, extrato etéreo; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

As digestibilidades da matéria seca e da proteína bruta foram 9% e 32,5% menores, respectivamente, nas silagens inoculadas e não foi influenciada pela reensilagem (Tabela 4). As digestibilidades da matéria orgânica, FDN, FDNcp, FDA e FDAcp não foram influenciadas pelos tratamentos. Houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para a digestibilidade de CNF que foi 13% maior nas silagens sem inoculante e que não foram reensiladas.

Tabela 4

Digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas

	Tratamentos				EPM	Valor de P		
	Controle		LP + PA			I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS (%)	53.49	52.41	50.09	46.34	0.98	0.03	0.23	0.50
MO (%)	54.51	54.54	52.47	48.95	1.02	0.08	0.41	0.40
PB (%)	47.80	40.81	28.53	31.28	2.20	0.001	0.58	0.21
FDN (%)	35.87	44.76	38.03	36.45	1.89	0.43	0.35	0.18
FDNcp (%)	36.18	45.89	39.29	38.13	1.93	0.55	0.28	0.17
FDA (%)	34.90	35.99	29.49	31.46	2.26	0.36	0.77	0.93
FDAcp (%)	36.82	37.34	32.61	35.12	1.93	0.54	0.77	0.85
CNF (%)	88.29	76.37	78.58	78.56	1.15	<0.01	<0.001	<0.001

LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem; MS, matéria seca; PB, proteína bruta; FDN, fibra em detergente neutro; FDNcp, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas; FDA, fibra em detergente ácido; FDAcp, fibra em detergente ácido corrigido para cinzas e proteínas; LIG, lignina; EE, extrato etéreo; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

A quantidade de N ingerida foi 17,5% menor nas silagens inoculadas e não foi influenciada pela reensilagem (Tabela 5). Os tratamentos não influenciaram a excreção de N fecal. Já a excreção de nitrogênio urinário e o balanço de N ou N retido foram 38% e 88% maiores, respectivamente, nas silagens sem inoculante e não foram influenciadas pela reensilagem.

Tabela 5

Balanço de N de ovinos alimentados com silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas

	Tratamentos					Valor de P		
	Controle		LP + PA		EPM	I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
N ingerido (g d ⁻¹)	13.14	11.4	9.65	10.6	0.49	0.01	0.61	0.09
N fecal (g d ⁻¹)	6.67	6.59	6.70	7.15	0.18	0.13	0.35	0.18
N urinário (g d ⁻¹)	0.93	1.15	0.73	0.77	0.06	0.002	0.13	0.28
N retido (g d ⁻¹)	5.53	3.66	2.22	2.65	0.40	0.006	0.32	0.12

LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

Não houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para nenhuma das variáveis de comportamento ingestivo estudadas (Tabela 6). A utilização do inoculante microbiano não influenciou essas variáveis. Entretanto, o tempo de alimentação foi 16% maior para os animais que se alimentaram das silagens que não foram reensiladas. O tempo em ócio foi 10% maior nas silagens reensiladas em comparação aquelas que não foram reensiladas. Os animais, em média geral, ficaram 13.17% do tempo em alimentação, 44.27% ruminando, 39.25% em ócio e 3.21% em outras atividades. A eficiência de alimentação em g FDN por hora foi 28% maior nas silagens reensiladas. As demais variáveis de comportamento ingestivo não foram influenciadas pela reensilagem.

Tabela 6

Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas

	Tratamentos				EPM	Valor de P		
	Controle		LP + PA			I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
Alimentação (min/dia)	205.00	163.75	203.12	186.87	9.46	0.27	<0.01	0.20
Ruminação (min/dia)	656.25	621.25	643.12	629.37	13.52	0.87	0.13	0.49
Ócio (min/dia)	535.62	611.25	541.25	572.50	18.79	0.35	<0.01	0.22
Outras atividades (min/dia)	42.50	43.12	52.50	50.62	5.03	0.37	0.95	0,90
Eficiência de alimentação (g MS/h)	305.21	400.46	301.65	308.52	18.01	0.07	0.05	0.09
Eficiência de alimentação (g FDN/h)	175.55	265.86	186.97	198.62	12.84	0.17	0.02	0.06
Eficiência de ruminação (g MS/h)	93.18	95.48	90.16	90.27	2.91	0.42	0.81	0.83
Eficiência de ruminação (g FDN/h)	53.79	63.22	56.57	57.98	2.20	0.77	0.21	0.35
Número de mastigações/bolo	83.30	77.82	83.36	81.96	3.12	0.52	0.30	0.54
Tempo de mastigações (seg/bolo)	59.90	56.37	58.51	57.79	1.87	0.99	0.43	0.60

LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

4. Discussão

O teor de MS ótimo de uma silagem para evitar as perdas por efluentes, o crescimento de microrganismos indesejáveis e a redução no consumo é de 27 a 38% (Demarquilly e Dulphy, (1977). As silagens desse experimento apresentaram o teor de MS abaixo dessa recomendação. Apenas a silagem sem inoculante e que não foi reensilada apresentou o teor de matéria seca mais próximo. O teor de PB médio foi de 7.25% da MS e está dentro da variação de 6 a 8%, que é o mínimo recomendado por Van Soest (1994) para a fermentação ruminal. Os valores de pH de todas as silagens foram abaixo de 4,2, considerado o ideal para silagens de boa qualidade. O teor de N amoniacal foi maior que os 10% recomendado em função do menor teor de MS (McDonald et al., 1991).

O maior teor de CNF nas silagens sem inoculantes e que não foram reensiladas indica que houve consumo dos carboidratos solúveis pela reensilagem. Segundo Tabacco et al. (2011), ocorre o consumo dos carboidratos solúveis por leveduras e fungos que proliferam quando o oxigênio penetra na silagem. Em decorrência disso, segundo esses autores, a exposição ao ar aumenta o teor de fibra da silagem. O consumo de matéria seca não foi influenciado pela reensilagem, provavelmente devido a semelhança nos valores de FDN das silagens reensiladas.

Os valores de consumo de matéria seca estão próximos aos sugeridos pelo AFRC (1993) ($51.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0.75} \text{ d}^{-1}$) e NRC (1985) ($53.19 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0.75} \text{ d}^{-1}$) para ovinos adultos em manutenção.

O consumo de matéria seca aumentou em silagens tratadas com inoculantes em alguns trabalhos (Kung Junior et al., 1993; Kung Junior, 2001). Os resultados não são consistentes e em grande não se observa efeito dos inoculantes quanto ao consumo. Silva et al. (2006) não encontraram diferença no consumo de matéria seca e dos nutrientes por novilhos Holandês x Zebu alimentados com silagens de milho e de sorgo tratadas com inoculantes contendo bactérias heterofermentativas facultativas. Ausência de efeito do uso de inoculantes no consumo em silagens de sorgo são relatados também por Rodrigues et al. (2002) com ovinos. O tratamento de silagens de milho com diferentes inoculantes contendo as bactérias *Pediococcus pentosaceus*, *Propionibacteria freudenreichii* e *Lactobacillus buchneri* combinadas ou não, não propiciou diferença no consumo de matéria seca e dos nutrientes no trabalho de Arriola et al. (2011). A ausência de alterações ocorre por causa da semelhança na composição bromatológica e no padrão de fermentação entre as silagens inoculadas e controle.

Alterações no consumo PB em silagens com inoculantes microbiano normalmente não são observados (Silva et al., 2006; Correa et al., 2007; Arriola et al., 2011). Os valores encontrados nesse trabalho foram, em média, $4.10 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0.75} \text{ d}^{-1}$ nas silagens sem inoculante e $3.39 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0.75} \text{ d}^{-1}$ nas silagens inoculadas. Esse resultado pode ter sido um reflexo da tendência ($p = 0.0758$) das silagens inoculadas apresentarem menor teor de PB. Os resultados evidenciam a inexistência de benefícios no consumo de nutrientes devido ao uso de inoculante microbiano.

O teor de FDN dos alimentos atua na regulação física do consumo. A limitação da ingestão ocorre quando o alimento apresenta grande quantidade de fibra o que reduz taxa de passagem tornando o compartimento retículo rúmen repleto (Van Soest, 1994). Segundo Mertens (1973), o consumo de FDN por ovinos alimentados com forragens com teores de FDN entre 35 e 75% é de aproximadamente $35 \text{ g kg}^{-1} \text{ PV}^{0.75} \text{ d}^{-1}$, que é próximo aos valores obtidos neste estudo.

A digestibilidade dos nutrientes normalmente não tem sido alterada pelo uso de inoculantes microbianos (Silva et al., 2006; Correa et al., 2007). Assim como no consumo, alguns trabalhos relataram pequenos aumentos na digestibilidade de nutrientes. A justificativa é dada com base em efeitos probióticos que promovem benefícios à flora ruminal e intestinal de ruminantes, favorecendo o maior aproveitamento dos nutrientes da dieta (Kung Junior, 2001; Weinberg et al., 2004). No entanto, esta justificativa é questionada e outros efeitos ditos não mensuráveis também foram colocados como explicação para esses resultados (Silva et al.,

2006). A menor digestibilidade da MS e da PB das silagens inoculadas obtidas nesse trabalho mostra que a utilização de inoculantes microbianos não é vantajosa. Essa afirmação é reforçada ao avaliar as inconsistências nos resultados tanto de consumo e digestibilidade quanto de composição bromatológica e qualidade da fermentação (Muck, 1993; Zopollato et al., 2009). Além disso, o inoculante utilizado não melhorou a estabilidade das silagens após a exposição ao ar (Michel et al., 2017).

Os estudos sobre a digestibilidade de silagens expostas ao ar e reensiladas estão iniciando no mundo e no Brasil. Chen e Weinberg (2014) avaliaram silagens de milho e Michel et al. (2017) avaliaram silagens de sorgo reensiladas, ambos verificaram uma pequena redução da digestibilidade *in vitro* da matéria seca. A reensilagem não alterou a digestibilidade *in vivo* da MS nesse estudo provavelmente devido a inalteração no teor e na composição da fração fibrosa. Essa afirmação é suportada pela inalteração na digestibilidade da FDN e da FDA. A maior digestibilidade do CNF nas silagens sem inoculante e que não foram reensiladas é reflexo da composição e do consumo dessas silagens. O resultado pode ser explicado pelo consumo de carboidratos solúveis por microrganismos aeróbios nas silagens reensiladas sem inoculante (Tabacco et al., 2011; Chen e Weinberg, 2014). E quando se analisa as silagens inoculadas, o consumo dos carboidratos solúveis pelos microrganismos inoculados, apesar de não influenciar nas outras variáveis, pode explicar a semelhança entre silagens reensiladas e não reensiladas (Filya et al., 2006).

O balanço de N é um bom indicador do metabolismo proteico do animal. Essa variável é mais eficiente que o consumo e a digestibilidade da proteína para determinar se houve perda de proteína pelo organismo (Andrighetto et al., 1990). A maior quantidade de N ingerida pelos animais alimentados com as silagens sem inoculante é consequência da maior ingestão de proteína bruta. Essa constatação também explica a maior excreção de N na urina desses animais. A maior quantidade de N retido nos animais alimentados com as silagens sem inoculante é consequência do maior consumo de N, da maior digestibilidade da PB dessas silagens e da semelhança na excreção de N via fezes entre as silagens com e sem inoculante. Apesar dos baixos níveis de PB nas dietas, todos os tratamentos apresentaram valores positivos para N retido. Isso indica que não houve perda de proteínas pelos animais.

O estudo de comportamento ingestivo é importante para compreender as alterações no consumo. O uso do inoculante microbiano não influenciou o comportamento ingestivo. Já os animais alimentados com as silagens reensiladas apresentaram menor tempo de alimentação e maior tempo em ócio. Entretanto, não houve diferença no consumo de MS e no consumo de FDN entre as silagens reensiladas e as que não foram reensiladas.

A Fibra em Detergente Neutro é o principal fator que afeta o comportamento ingestivo, pois interfere diretamente no funcionamento ruminal. Segundo Van Soest (1994), o conteúdo de FDN na dieta influencia o tempo gasto com a alimentação. O tempo de alimentação pode ser aumentado inicialmente com o aumento do teor de FDN da dieta, porém é diminuído quando os valores de FDN se elevam. Já o tempo de ruminação é maior quanto maior o teor de FDN da dieta. Porém as dietas deste estudo apresentaram conteúdo de fibra similar. A maior eficiência de alimentação em gramas de FDN/hora nas silagens reensiladas pode justificar o menor tempo de alimentação dos animais alimentados com essas silagens. Isso significa que em uma hora os animais alimentados com as silagens reensiladas comeram uma maior quantidade de FDN o que pode ter levado, em um prazo de 24 horas, a um menor tempo de alimentação. Essa justificativa é reforçada pela tendência de maior teor de FDN nas silagens reensiladas.

A utilização do inoculante microbiano não foi vantajosa nas variáveis de consumo, digestibilidade e não influenciou o comportamento ingestivo se tornando um custo desnecessário quando as silagens são bem confeccionadas como a desse trabalho. A reensilagem, apesar de promover menor tempo de alimentação e maior tempo de ócio, não provocou alterações no consumo e na digestibilidade das silagens o que pode viabilizar o seu uso. Porém, quando se utiliza a reensilagem e o inoculante microbiano, uma importante fração nutricional prontamente disponível (CNF) é consumida fazendo com que o consumo e a digestibilidade dessa fração sejam menores.

5. Conclusões

O consumo e a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos foram maiores em silagens sem inoculante contendo *Lactobacillus plantarum* + *Propionobacterium acidipropionici* e não reensiladas após 24 horas de exposição ao ar. O uso do inoculante microbiano diminuiu o consumo proteína bruta e a digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta de silagens de sorgo. A reensilagem proporcionou aos carneiros menor tempo de alimentação e maior tempo de ócio.

Referencias

AFRC, 1993 - Agricultural and Food Research Council. Energy and protein requirements of ruminants. CAB International. Wallingford.

- Andrigueto, J.M., Perly, L., Minard, I., Gemael, A., Flemming, J.S., Souza, G.A., Bona Filho, A., 1990. *Nutrição animal: Bases e os fundamentos da nutrição animal*, v. 1. Rio de Janeiro: Nobel. 389p.
- Anjos, G.V.S., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Keller, K.M., Coelho, M.M., Michel, P.H.F., Ottoni, D., Jayme, D.G., 2018. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *J. Dairy Sci.* 101, 6047 – 6054.
- AOAC, 2007. Association of official analytical chemists. *Official methods of analysis*. 16.ed. Washington: AOAC. 2000p.
- Arriola, K.G., Kim, S.C., Staples, C.R., Adesogan, A.T., 2011. Effect of applying bacterial inoculants containing different types of bacteria to corn silage on the performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94, 3973–3979.
- Bernardes, T.F., Rêgo, A.C., 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 97, 1852-1861.
- Burger, P.J., Pereira, J.C., Queiroz, A.C., Silva, J.F.C., Valadares Filho, S.C., Cecon, P.R., Casali, A.D.P., 2000. Comportamento ingestivo em bezerros Holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Rev. Bras. Zootec.* 29, 236-242.
- Chen, I., Weinberg, Z.G., 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *J. Dairy Sci.* 97, 406–410.
- Correa, R.A., Silva, L.D.F.; Bett, V., Castro, V.S., Ribeiro, E.L.A., Beran, F.H.B., Rocha, M.A., Ezequiel, J.M.B., Massaro Junior, F.L., 2007. Intake and digestibility of some nutritional components of sorghum silage (*Sorghum bicolor* L. Moench) with or without additives in sheep. *Semina: Ciênc. Agrár.* 28, 151-158.
- Demarquilly, C., Dulphy, J.P., 1977. Effect of ensiling on feed intake and animal performance. In: *Proceedings of International Meeting on Animal Production from Temperate Grasslands*. Irish Grassland and Animal Production Association. Dublin. 53-61.
- 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. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33, 353–358.

- Gerlach, K., Rob, F., Weib, K., Büscher, W., Südekum, K.H., 2013. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agr. Food Sci.* 22, 168-181.
- Kung Junior, L., 2001. Silage fermentation and additives. In: Science and technology in the feed industry. 17. 2001. Nottingham. Proceedings... Nottingham: Nottingham University Press. 2001. 45-159.
- Kung Junior, L., Chen, J.H., Kreck, E.M., Knutsen, K., 1993. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76. 3763–3770.
- Lima, E.M., Gonçalves, L.C., Keller, K.M., Rodrigues, J.A.S., Santos, F.P.C., MICHEL, P.H.F., Raposo, V.S.; 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. *Can. J. Anim. Sci.* 97. 250-257.
- Machado, F.S., Rodríguez, N.M., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Ribas, M.N., Pôssas, F.P., Guimarães Júnior, R., Jayme, D.G., Pereira, L.G.R., 2011. Consumo e digestibilidade aparente de silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 63, 1470 – 1478.
- McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S., 1991. The biochemistry of silage. 2^a ed. Marlow: Chalcombe Publications. 340p.
- Mertens, D.R., 1973. Dietary fibre components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. *Federation. Proceedings...* 36, 483-488.
- Michel, P.H.F., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Keller, K.M.; Raposo, V.S., Lima, E.M., Santos, F.P.C., Jayme, D.G., 2017. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. *Grass Forage Sci.* 72, 432-440.
- MUCK. R.E. 1993. The role of silage additives in making high quality silage. New York: Natural Resource. Agriculture. and Engineering Service. 67, 106-116.
- MUCK. R.E., 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 183-191.

- NRC, 1985. National research council -. Nutrient requirements of sheep. 6th ed. National Academy Press. Washington. DC.
- Polli, V.A., Restle, J., Senna., D.B. 1995. Comportamento de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. Ciên. Rural. 25, 127-131.
- Rodrigues, P.H.M., Senatore, A.L., Lucci, C.S., Andrade, S.J.T., Lima, F.R., Melotti, L., 2002. Valor nutritivo da silagem de sorgo tratada com inoculantes enzimomicrobianos. Acta Sci.. 24, 1141-1145.
- Silva, A.V., Pereira, O.G., Valadares Filho, S.C., Garcia, R., Cecon, P.R., Ferreira, C.L.L.F., 2006. Consumo e digestibilidades dos nutrientes em bovinos recebendo dietas contendo silagens de milho e sorgo com e sem inoculante microbiano. Rev. Bras. Zootec. 35, 2469-2478.
- Souza, V.G., Pereira. O.G., Moraes, S.A., Garcia, R., Valadares Filho, S.C., Zago, C.P., Freitas, E.V.V., 2003. Valor nutritivo de silagens de sorgo. Rev. Bras. Zootec. 32, 753-759.
- Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A., Borreani, G., 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. J. Dairy Sci. 94. 1409–1419.
- Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell University Press. Ithaca. New York.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991 Methods for dietary fiber. neutral detergent and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.
- Weinberberg, Z.G., Chen, Y., Gamburg, M., 2004. The passage of lactic acid bacteria from silage into rumen fluid in vitro studies. J. Dairy Sci. 87, 3386-3397.
- Weiss, W.P., 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61, Proceedings... Ithaca: Cornell University, p.176-185.
- Wilkinson, J.M., Davies, D.R., 2012. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. Grass Forage Sci. 68, 1 –19.

Zhang, C., Brandt, M.J., Schwab, C., Gänzle, M.G., 2010. Propionic acid production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. Food Microbiol. 27, 390-395.

Zopollatto, M., Daniel, J.L.P., Nussio, L.G., 2009. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. Rev. Bras. Zootec. 38, 170-189.

**CAPÍTULO 3: DEGRADABILIDADE RUMINAL *IN SITU* DOS
NUTRIENTES DE SILAGENS DE SORGO REENSILADAS COM O USO
DE INOCULANTE MICROBIANO**

Degradabilidade ruminal *in situ* dos nutrientes de silagens de sorgo reensiladas com o uso de inoculante microbiano

Resumo – A reensilagem tem sido uma prática comum ao redor do mundo devido a compra e/ou transferência frequente de silagens entre propriedades. O uso de inoculantes microbianos pode ser uma alternativa para evitar as perdas durante essa prática e melhorar o valor nutricional. Objetivou-se avaliar o efeito da reensilagem e do inoculante contendo *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici* na degradabilidade ruminal *in situ* das silagens de sorgo. O desaparecimento da MS e da MO das silagens reensiladas sem inoculante foi 5% e 4,3% maior, respectivamente, que as silagens reensiladas com inoculante. O desaparecimento da FDN foi 16% maior nas silagens não reensiladas e inoculadas enquanto nas silagens reensiladas o desaparecimento da FDN foi 8% maior nas silagens sem inoculante. O parâmetro “a” (fração solúvel) da degradação da MS e da MO foi 13% e 12% maior nas silagens inoculadas. O parâmetro “a” para a degradação da FDN foi 1,3 vezes maior nas silagens inoculadas e quase 2 vezes maior nas silagens reensiladas. O parâmetro “b” (fração potencialmente degradável) da MS e MO foi 12% e 10% maior, respectivamente, nas silagens reensiladas sem inoculante. A taxa de degradação “c” (taxa constante de degradação da fração potencialmente degradável) da FDN foi 30% maior nas silagens que não foram reensiladas e inoculadas enquanto que nas silagens reensiladas a taxa de degradação “c” da FDN foi 25% maior nas silagens sem inoculante. As digestibilidades da MS, da MO e da FDN após 120 horas de incubação foram, respectivamente, 2%, 2% e 8% maior nas silagens que não foram reensiladas e inoculadas. Já nas silagens reensiladas, as digestibilidades da MS, da MO e da FDN no tempo máximo de incubação de 120 horas foram 7%, 7% e 8% maiores, respectivamente, nas silagens sem inoculante. A degradabilidade efetiva a 0.02 h^{-1} da MS, da MO e da FDN foi 2.6%, 2.7% e 19.4% maior, respectivamente, nas silagens que não foram reensiladas e que foram inoculadas. Nas silagens reensiladas a degradabilidade efetiva a 0.02 h^{-1} da MS, da MO e da FDN foi 4.6%, 4.3% e 8% maior, respectivamente, nas silagens sem inoculante. A degradabilidade efetiva a 0.05 h^{-1} da FDN foi 33.7% maior que não foram reensiladas e que foram enquanto que nas silagens reensiladas a degradabilidade efetiva da FDN foi 3.5% maior nas silagens sem inoculante. O uso de inoculante microbiano contendo *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici* não apresentou efeito em silagens reensiladas, porém melhorou a degradabilidade de silagens de sorgo convencionais.

Palavras-chave: *Lactobacillus plantarum*, *Propionobacterium acidipropionici*, volumoso, nutrição.

1. Introdução

O sorgo na forma de silagem é amplamente usado na alimentação animal e o valor nutricional é parecido com a silagem de milho quando adequadamente cultivado e ensilado (Jalilvand et al., 2015, Behling Neto et al., 2017). O sorgo é a segunda planta mais destinada para a ensilagem (Bernardes e Rêgo, 2014) e apresenta como principal característica agrônômica a resistência ao déficit hídrico (Behling Neto et al., 2017). As forragens contribuem em grande parte da ingestão de matéria seca em sistemas de produção de ruminantes e o valor nutritivo normalmente é mais variável do que em alimentos concentrados. Um dos fatores que pode influenciar o valor nutritivo das silagens é o contato com o ar. A entrada de oxigênio na massa ensilada favorece o crescimento de leveduras e fungos que consomem os carboidratos solúveis, dessa maneira, a proporção de componentes fibrosos da silagem aumenta (Tabacco et al., 2011; Wilkinson e Davies, 2012). Dessa maneira, o valor nutritivo das silagens que são compradas/transferidas de uma fazenda para outra e posteriormente reensiladas pode ficar comprometido.

A reensilagem tem sido uma prática comum ao redor do mundo devido a compra e/ou transferência frequente de silagens entre propriedades (Chen & Weinberg, 2014; Michel et al., 2017; Lima et al. 2017, Anjos et al., 2018, Coelho et al., 2018). A utilização de inoculantes microbianos contendo bactérias propiônicas nesse material pode ser uma alternativa para minimizar os danos da exposição ao ar (Michel et al., 2017; Anjos et al., 2018, Coelho et al., 2018). Na literatura verifica-se algumas informações sobre a qualidade da fermentação, a composição bromatológica e a estabilidade aeróbia de silagens reensiladas. Entretanto, ainda são escassos trabalhos que avaliam a degradabilidade ruminal de silagens reensiladas.

A degradabilidade ruminal *in situ* é uma técnica que fornece informações relacionadas às taxas e extensões de degradação das frações nutricionais que compõem os alimentos (Silva et al., 2014; Pagella et al., 2017). A técnica permite o estudo rápido e simples da digestão dentro deste compartimento bem como da degradabilidade do material em função do tempo de incubação (Pires et al., 2009). A sua utilização pode fornecer importantes informações a respeito da degradabilidade ruminal de silagens reensiladas e inoculadas com inoculante microbiano.

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante contendo *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici* na degradabilidade ruminal *in situ* de silagens de sorgo.

2. Materiais e métodos

2.1. Plantio, colheita e ensilagem

A lavoura de sorgo do cultivar BRS 655 foi plantada em área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, situada em Sete Lagoas- Minas Gerais com latitude 19°28'S, longitude 44°15'W e altitude de 732 metros. O espaçamento utilizado foi de 70 cm entrelinhas e a adubação de plantio foi feita com 400 kg/ha de 8-28-16 (NPK) + 0,5% Zn. Decorridos 35 dias após o plantio, foi aplicado 100 kg de nitrogênio por hectare em cobertura.

A colheita aconteceu no estágio leitoso/pastoso de maturação do grão. A lavoura foi colhida e picada entre um e dois centímetros utilizando uma colheitadeira de forragem convencional. A forragem foi ensilada em tambores metálicos com capacidade para armazenamento de 200L revestidos internamente com sacos de polietileno. Após o enchimento, os silos experimentais foram fechados com as tampas e vedados com auxílio de lacres metálicos.

2.2. Tratamentos

Os tratamentos avaliados foram a aplicação de um inoculante microbiano no momento da ensilagem e a reensilagem do material após 24 horas de exposição ao ar. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 2 x 2. O primeiro fator consistiu na aplicação ou não do inoculante e o segundo na conservação por meio de silagem convencional ou a realização da reensilagem.

O inoculante utilizado foi composto pela bactéria heterofermentativa facultativa *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U e da bactéria propiônica *Propionibacterium acidipropionici* MA26/4U na quantidade de $2,5 \times 10^{10}$ Unidades Formadoras de Colônia por grama de produto (UFCg⁻¹) para cada microrganismo (Biomax Milho; Lallemand, Saint-Simon, França). A aplicação ocorreu no momento da ensilagem. O produto foi diluído em água na proporção de um grama por litro. Dois litros da mistura, conforme recomendações do fabricante foram pulverizados com auxílio de pulverizador costal sobre o material de maneira uniforme e

com mistura constante. Os demais tratamentos receberam apenas água na mesma proporção daqueles que foram tratados com o inoculante.

A reensilagem foi realizada após 56 dias da ensilagem de forma que os silos foram abertos, o material desensilado e reensilado após 24 horas de exposição ao ar. Esse procedimento ocorreu em galpão na Embrapa Milho e Sorgo com início às oito horas da manhã do dia 23 de abril de 2014 e término às oito da manhã do dia seguinte. As condições climáticas registradas no período da exposição aeróbia foram obtidas na estação meteorológica da Embrapa Milho e Sorgo (Tabela 1).

Tabela 1

Condições climáticas registradas no período da exposição aeróbia

Data	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Temperatura média (°C)	Precipitação (mm)	Insolação (horas)
23/04/2014	28.60	18.60	23.26	0.00	3.20
24/04/2014	25.00	18.70	20.84	0.00	0.00

Após a reensilagem o material foi transferido para o Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal da Escola de Veterinária da UFMG (EV/UFMG) em Belo Horizonte, Minas Gerais.

2.3. Análises laboratoriais

Sessenta dias após a reensilagem os tambores foram abertos e a silagem da superfície, exposta ao oxigênio, foi descartada independentemente do grau de deterioração. O material foi amostrado em cinco silos por tratamento e em três profundidades dentro de cada silo experimental (início, meio e fim) totalizando 15 amostras simples. Posteriormente, as 15 amostras simples de cada tratamento foram organizadas em uma amostra composta por tratamento totalizando quatro amostras. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas e em seguida foram moídas a 5 mm. Uma fração da amostra foi redirecionada ao moinho (Thomas Modelo 4 Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) para reduzir o tamanho de partícula a 1 mm. As amostras moídas a 5 mm foram utilizadas no experimento de degradabilidade *in situ* e aquelas moídas a 1 mm foram destinadas para a realização das análises bromatológicas da silagem (Tabela 2).

Tabela 2

Composição química (g kg^{-1} MS) das silagens de sorgo tratadas com inoculante e reensiladas antes da incubação *in situ*

Variáveis (%)	Tratamentos			
	Controle		LP + PA	
	SIL	RE	SIL	RE
MS	260.7	242.3	242.4	246.4
Cinzas	45.5	47.5	45.1	44.6
PB	77.0	73.1	69.3	70.5
FDN	587.6	655.4	637.7	638.3
FDNcp	544.8	614.8	598.0	593.6
FDA	334.4	358.8	344.4	364.0
FDAcp	305.1	320.2	317.3	332.2
LIG	60.9	61.7	64.8	63.1
EE	38.9	44.2	49.6	41.5
CNF	293.8	220.4	238.1	249.8

LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem; MS, matéria seca; PB, proteína bruta; FDN, fibra em detergente neutro; FDNcp, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas; FDA, fibra em detergente ácido; FDAcp, fibra em detergente ácido corrigido para cinzas e proteínas; LIG, lignina; EE, extrato etéreo.

O teor de matéria seca (MS) foi determinado em estufa a 105 °C e as cinzas por meio de combustão em forno a 600 °C (AOAC, 1990). O nitrogênio total das amostras foi determinado pelo método de Kjeldahl e multiplicado por 6,25 para o cálculo da proteína bruta (PB) (AOAC, 1990). O extrato etéreo (EE) foi determinado pela extração de substâncias solúveis em éter etílico utilizando o método de Soxhlet (AOAC, 1990). Os componentes da parede celular foram obtidos pelo método sequencial (fibra em detergente neutro – FDN, fibra em detergente ácido – FDA e lignina) conforme Van Soest et al. (1991) utilizando um analisador de fibras Ankom²⁰⁰ (Ankom Technology Corp, Fairport, NJ). A enzima Amilase termoestável (Termamyl 2x, Novozymes AS, Krogshoejvej, Bagsvaerd) foi adicionada na proporção de 0,5 mL por amostra durante as análises de FDN. Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de cinzas e PB para corrigir os valores para cinzas e proteína (FDNcp e FDAcp).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados usando a equação de Weiss (1999): $CNF = 100 - (\% FDN_{cp} + \% PB + \% EE + \% Cinzas)$.

2.4. Procedimentos para a incubação *in situ*

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite (Protocolo 03/2014).

O ensaio *in situ* foi conduzido na Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Quatro vacas da raça Holandês fistuladas no rúmen foram utilizadas. As vacas foram alojadas em free-stall com acesso livre à água e sal mineral. A dieta dos animais foi composta por silagem de milho mais 3 kg de concentrado (18% de PB) por animal/dia.

Os sacos de náilon (poros de 50 μm) utilizados neste estudo mediam 18 cm de altura e 9,5 cm de largura. Os sacos foram secos a 55°C por 24 horas e tiveram seus pesos registrados. Cada saco foi preenchido com 4,2 g de amostra de cada tratamento com o objetivo de alcançar 16,67 mg de amostra/cm², considerando 13 cm de altura livre. Os sacos com as amostras foram agrupados com presilhas plásticas a um aro metálico. O aro foi atado a uma presilha de contenção tipo chaveiro que manteve três aros e três sacos. Uma corrente com um cilindro de ferro (aproximadamente 150g) foi utilizada como âncora.

Os tempos de incubação foram de 0, 6, 12, 24, 48, 96 e 120 horas. Os cinco sacos (réplicas) de cada tratamento correspondentes ao tempo zero (t₀) foram lavados manualmente por 20 minutos em água de torneira. Após a lavagem os sacos foram secos em estufa a 55°C com ventilação forçada por 72 horas, transferidos para um dessecador durante 15 minutos e pesados para quantificar a fração solúvel. Nos demais tempos de avaliação foram incubados três sacos por tratamento, todos os tratamentos foram incubados ao mesmo tempo. Imediatamente depois de retirados do rúmen, os sacos foram imersos em água fria e posteriormente lavados manualmente em água corrente a temperatura ambiente até que a água permanecesse límpida. Após a lavagem, os sacos foram secos em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, transferidos para um dessecador por 30 minutos e pesados. Posteriormente, todas as amostras (resíduos da incubação ruminal e t₀) foram trazidas para o Laboratório de Nutrição Animal da EV da UFMG, moídas a 1mm para realização das análises de MS, cinzas e FDN conforme as metodologias citadas anteriormente. O teor de Matéria orgânica (MO) foi calculado como a diferença do conteúdo antes e depois da queima completa da amostra para a determinação das cinzas.

2.5. Análises estatísticas

O delineamento experimental foi blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas, com as fontes de variação: animal (blocos), tratamentos (Reensilagem e/ou inoculante - parcelas) e tempos de incubação (subparcelas). As médias foram submetidas à análise de interação e caso significativa foram desdobradas. Caso não significativa, os fatores foram comparados separadamente pelo teste de F a 5% de significância.

Os parâmetros da cinética de degradação ruminal foram estimados utilizando o procedimento PROC NLIN (SAS, 2016). A cinética de degradação da MS, da MO e da FDN foi estimada pelo modelo descrito por Ørskov e McDonald (1979), usando o algoritmo de Marquardt para ajustar a regressão não linear: $p = a + b(1 - e^{-ct})$ onde p é a quantidade degradada durante o tempo t ; a = fração solúvel em água; b = fração insolúvel potencialmente degradável; c = taxa de degradação de b .

As degradabilidades efetivas (DE) para as taxas de pastagens de 2 e 5%/hora, foram calculadas segundo o modelo proposto por Ørskov & McDonald (1979):

$$DE = \frac{a + (b * c)}{(c + K)}$$

Em que:

DE = degradabilidade efetiva;

a = fração solúvel (tempo zero);

b = fração insolúvel potencialmente degradável;

c = taxa de degradação de b ;

K = taxa fracional de passagem, as taxas consideradas para este experimento foram de 0,02 e 0,05 h^{-1} .

3. Resultados

Houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para o desaparecimento de todos os componentes nutricionais estudados (Tabela 3). A análise de desdobramento da utilização ou não do inoculante dentro do fator silagem ou reensilagem mostrou que, quando as silagens não foram reensiladas, o desaparecimento da MS e da MO foi semelhante entre as silagens com e sem inoculante. Quando as silagens foram reensiladas, aquelas sem inoculante apresentaram desaparecimento da MS 5% maior e da MO 4,3% maior que as silagens inoculadas. O desaparecimento da FDN foi 16% maior nas silagens não reensiladas e inoculadas enquanto nas silagens reensiladas o desaparecimento da FDN foi 8% maior nas silagens sem inoculante.

Tabela 3

Médias de desaparecimento dos componentes nutricionais (g kg^{-1}) das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano

	Tratamentos ¹				EPM ²²	Valor de P ³		
	Controle		LP + PA			I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS	520.4	532.9	532.3	509.4	43.37	0.47	0.52	0.049
MO	530.5	545.6	544.9	522.8	42.86	0.62	0.67	0.047
FDN	452.8	459.3	468.1	430.7	49.84	0.08	0.03	<0.001

¹LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem.

²EPM, erro padrão da média.

³I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

Os elevados coeficientes de determinação (R^2) demonstram que os dados dos parâmetros de cinética de fermentação ruminal ajustaram-se bem ao modelo proposto por Ørskov e McDonald (1979). Não houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para o parâmetro “a” (fração solúvel) da cinética da fermentação ruminal em nenhuma das frações nutricionais avaliadas (Tabela 4). O parâmetro “a” de degradação do MS e da MO foi 13% e 12% maior, respectivamente, nas silagens inoculadas. A reensilagem não influenciou o parâmetro “a” das silagens na cinética da fermentação da MS e MO. O parâmetro “a” para a degradação da FDN foi 1,3 vezes maior nas silagens inoculadas em relação àquelas silagens sem inoculante. Ao avaliar o efeito do fator reensilagem, o parâmetro “a” da FDN foi quase 2 vezes maior nas silagens reensiladas. Possivelmente o menor valor encontrado para a FDN no tratamento controle (silagem sem inoculante) contribuiu para esses resultados.

O parâmetro “b” refere-se à fração potencialmente degradável. Houve interação significativa entre os fatores inoculante e reensilagem para o parâmetro “b” nas cinéticas de fermentação da MS e MO. O parâmetro “b” para a cinética de fermentação da MS e da MO das silagens que não foram reensiladas foi semelhante entre as silagens com e sem inoculante. Quando as silagens foram reensiladas, aquelas sem inoculante apresentaram um valor 12% maior para o parâmetro “b” na cinética de fermentação da MS e 10% maior na cinética da MO. Não houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para o parâmetro “b” da cinética

da fermentação da FDN assim como não houve efeito significativo dos dois fatores isoladamente.

Não houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem e dos fatores isolados na taxa de degradação “c” das cinéticas de fermentação ruminal da MS e da MO. Quanto a cinética da fermentação da FDN, houve interação significativa entre os fatores inoculante e reensilagem para a taxa de degradação “c”. A taxa de degradação “c” foi 30% que não foram reensiladas e inoculadas enquanto que nas silagens que foram reensiladas aquelas sem inoculante apresentaram taxa de degradação “c” 25% maior.

Tabela 4

Parâmetros de cinética ruminal dos componentes nutricionais das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano

Parâmetros	Tratamentos ¹				EPM ⁵	Valor de P ⁶		
	Controle		LP + PA			I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS								
a (%) ²	16.24	15.08	16.59	18.80	0.54	0.03	0.53	0.06
b (%) ³	61.31	66.73	62.61	59.53	0.88	0.06	0.41	0.01
c (%/h ⁻¹) ⁴	0.0270	0.0265	0.0275	0.0235	0.0015	0.32	0.09	0.17
R ²	0.98	0.97	0.97	0.96				
MO								
a (%)	17.44	17.19	18.34	20.37	0.51	0.02	0.26	0.16
b (%)	61.88	65.61	60.77	59.22	0.82	0.07	0.40	0.02
c (%/h ⁻¹)	0.275	0.0262	0.275	0.0237	0.0015	0.36	0.09	0.36
R ²	0.98	0.97	0.98	0.96				
FDN								
a (%)	0.81	11.24	5.30	6.50	1.21	0.01	<0.01	0.93
b (%)	73.99	78.10	70.61	73.59	2.21	0.42	0.46	0.91
c (%/h ⁻¹)	0.020	0.022	0.026	0.017	0.0018	0.71	0.13	0.03
R ²	0.97	0.97	0.98	0.95				

¹LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem.

²a, fração solúvel.

³b, fração insolúvel potencialmente degradável.

⁴c, taxa de degradação.

⁵EPM, erro padrão da média.

⁶I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

Houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem em todas as variáveis analisadas na digestibilidade no tempo máximo de incubação de 120 horas (Tabela 5). As digestibilidades da MS, da MO e da FDN no tempo máximo de incubação de 120 horas foram, respectivamente, 2%, 2% e 8% maior nas silagens que não foram reensiladas e foram inoculadas. Em contrapartida, nas silagens reensiladas, as digestibilidades da MS, da MO e da

FDN no tempo máximo de incubação de 120 horas foram 7.34%, 7% e 8% maiores, respectivamente, nas silagens sem inoculante.

Tabela 5

Degradabilidade às 120 horas de incubação ruminal das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano

Variáveis (%)	Tratamentos ¹				EPM ²	Valor de P ³		
	Controle		LP + PA			I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS	74.59	77.92	76.01	72.59	0.7867	<0.001	0.91	<0.001
MO	75.48	78.89	77.02	73.70	0.7858	<0.001	0.89	<0.001
FDN	67.16	75.32	72.54	68.04	1.1682	0.11	<0.01	<0.001

¹LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem.

²EPM, erro padrão da média.

³I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

Houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para a degradabilidade efetiva de todas as frações nutricionais estudadas quando a taxa de passagem foi de 0.02 h⁻¹ (Tabela 6). A degradabilidade efetiva a 0.02 h⁻¹ da MS, da MO e da FDN foi 2.6%, 2.7% e 19.4% maior, respectivamente, nas silagens que não foram reensiladas e foram inoculadas. Quando as silagens foram reensiladas, aquelas sem inoculante apresentaram degradabilidade efetiva a 0.02 h⁻¹ 4.6%, 4.3% e 8% maior para MS, MO e FDN, respectivamente. Na taxa de passagem de 0.05 h⁻¹, houve interação significativa apenas para a degradabilidade efetiva da FDN. A degradabilidade efetiva da FDN foi 33.7% maior nas silagens que não foram reensiladas e foram inoculadas em relação àquelas sem inoculante. Já quando as silagens foram reensiladas, a degradabilidade efetiva da FDN foi 3.5% maior nas silagens sem inoculante.

Tabela 6

Degradabilidade efetiva das silagens de sorgo reensiladas e tratadas com inoculante microbiano

	Tratamentos ¹				EPM ²	Valor de P ³		
	Controle		LP + PA			I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
0.02 h ⁻¹								
MS	51.21	52.52	52.53	50.19	0.70	0.10	0.09	<0.001
MO	52.37	53.78	53.79	51.54	0.70	0.21	0.19	<0.001
FDN	37.74	45.60	45.07	42.25	1.07	0.002	<0.001	<0.001
0.05 h ⁻¹								
MS	37.62	37.85	38.63	37.39	0.60	0.50	0.24	0.09
MO	38.87	39.37	40.07	38.85	0.60	0.41	0.39	0.06
FDN	22.00	29.48	29.43	28.49	1.00	<0.001	<0.001	<0.001

¹LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem.

²EPM, erro padrão da média.

³I, efeito do inoculante; R, efeito da reensilagem; I × R, efeito da interação.

4. Discussão

O estudo encontrou uma forte dependência entre os fatores reensilagem e inoculante. A reensilagem se caracteriza pela ensilagem de um material que inevitavelmente entrou em contato com o ar. O ar é a causa primária da deterioração das silagens pois permite a atividade de microrganismos indesejáveis, tais como leveduras e fungos, que resulta em perdas de nutrientes (Filya et al., 2006). Para solucionar esse problema, as bactérias propiônicas são adicionadas aos inoculantes porque o ácido propiônico é efetivo no controle desses microrganismos (Zhang et al., 2010). De forma geral, as silagens que não foram reensiladas e foram inoculadas apresentaram os melhores resultados para o desaparecimento, digestibilidade no tempo máximo de incubação e degradabilidade efetiva das frações nutricionais. Uma exceção ocorreu apenas para o desaparecimento da MS e MO em que os resultados nas silagens que não foram reensiladas foram semelhantes entre silagens inoculadas e não inoculadas. Por outro lado, nas silagens reensiladas, aquelas sem inoculante apresentaram melhores resultados que as silagens inoculadas.

A resposta ao uso de inoculantes depende de vários fatores como a população microbiana natural da planta, a capacidade das bactérias inoculadas de se multiplicarem rapidamente, a capacidade de promover adequada fermentação e sobreviver ao processo de fermentação (McDonald et al., 1991; Muck, 2010). O inoculante com *P. acidipropionici* não promoveu alterações quando as silagens foram reensiladas. Segundo Filya et al. (2006) e Weinberg et al. (1995a, b), *P. acidipropionici* não é tolerante às condições ácidas (valores próximos ou abaixo de 4.00) observadas em silagens de boa qualidade. Dessa maneira, o pH abaixo de 4.2 das silagens desse trabalho (Michel et al., 2017) pode ter inibido o crescimento dessa bactéria e a produção de ácido propiônico. Em trabalhos com silagem de milho (Coelho et al., 2018) e sorgo (Michel et al., 2017; Anjos et al., 2018) reensiladas e inoculadas com os mesmos microrganismos utilizados nesse trabalho não foram encontrados benefícios do uso do inoculante em melhorar a estabilidade aeróbia das silagens. O resultado encontrado por esses autores sustenta a afirmação da ausência do crescimento do *P. acidipropionici* e a justificativa dos resultados das silagens reensiladas e inoculadas desse trabalho.

A maior fração “a” para as silagens inoculadas pode ser explicada pela ausência de crescimento dos microrganismos inoculados, principalmente *P. acidipropionici*, o que não levou ao consumo de carboidratos solúveis. A reensilagem não influenciou o parâmetro “a” das silagens na cinética da fermentação da MS e MO. Segundo Tabacco et al. (2011), a exposição de silagens ao ar provoca o consumo dos carboidratos solúveis por leveduras e fungos que proliferam na silagem. Isso provavelmente não aconteceu porque as silagens desse trabalho foram expostas ao ar apenas por 24 horas e posteriormente foram reensiladas. Além disso, as condições ambientais (Tabela 1) não foram favoráveis ao crescimento exponencial dos microrganismos deletérios. O maior valor do parâmetro “a” para a degradação da FDN das silagens inoculadas e nas silagens reensiladas em relação àquelas não reensiladas ocorreu principalmente por causa do baixo valor encontrado no tratamento controle (silagem sem inoculante).

As silagens reensiladas sem inoculante apresentaram valores maiores para o parâmetro “b” na cinética de fermentação da MS e da MO. Esses resultados em conjunto com os demais, confirmam a observação de Kung Junior et al. (2003) de que os inoculantes não melhoram consistentemente a fermentação da silagem, a digestibilidade ou mesmo o desempenho animal. A variação nos resultados dos inoculantes pode ser relacionado ao modo específico de ação das bactérias adicionadas. A inoculação com *L. plantarum* + *P. acidipropionici* poderia melhorar ou mesmo igualar a degradabilidade ruminal das silagens reensiladas em relação àquelas sem inoculante. Essa afirmação é embasada na maior capacidade do ácido propiônico em inibir o

crescimento de microrganismos aeróbios deletérios (Zhang et al., 2010). Porém, isso não aconteceu provavelmente por causa da morte do *P. acidipropionici* em meio ácido (Filya et al., 2006). Filya (2003) mostrou que bactérias lácticas homofermentativas e heterofermentativas, inclusive *L. plantarum* utilizada nesse trabalho, não afetaram a degradabilidade in situ da MS, MO e FDN de silagens de milho, sorgo e trigo. Em contrapartida, a literatura sugere que o uso de inoculantes microbianos pode produzir efeitos positivos na degradabilidade ruminal e até mesmo no desempenho animal devido a um efeito probiótico no rúmen, um mecanismo que não é conhecido (Kung Junior, 2001; Weinberg et al., 2004). Essa constatação surgiu dos efeitos positivos nessas variáveis mesmo quando o inoculante não alterou significativamente a fermentação da silagem. Os estudos citados acima e o trabalho feito por Weinberg et al. (2003) em que avaliou o uso de vinte inoculantes comerciais no fluido ruminal e constatou a sobrevivência dos microrganismos inoculados no rúmen, foi feita com *L. plantarum*. Os melhores resultados encontrados nesse trabalho para as silagens que não foram reensiladas e que foram inoculadas provavelmente se deve à inoculação desse microrganismo e o seu provável efeito probiótico no rúmen.

Segundo Sampaio (1988), forragens de boa qualidade devem apresentar valores de “c” para MS acima de $0,020 \text{ h}^{-1}$. As silagens avaliadas neste estudo atenderam a essa condição com os valores entre $0,027$ e $0,032 \text{ h}^{-1}$. A maior taxa de degradação “c” nas silagens não reensiladas com inoculante e maior nas silagens reensiladas sem inoculante justifica o mesmo comportamento de interação das variáveis desaparecimento, digestibilidade após 120 horas de incubação e degradabilidade efetiva a 0.02 h^{-1} e 0.05 h^{-1} da FDN.

Os resultados sugerem que o inoculante não promove alterações na degradabilidade ruminal de todas as frações nutricionais de silagens de sorgo reensiladas tornando-o um custo desnecessário quando o objetivo é a venda de silagens. A reensilagem não prejudica a degradabilidade ruminal das frações nutricionais de silagens de sorgo o que, especificadamente no aspecto de degradabilidade ruminal, pode viabilizar a sua prática.

5. Conclusão

A reensilagem e a utilização de inoculante microbiano contendo *Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici* em silagens de sorgo interagem entre si causando uma dependência entre os dois tratamentos sobre a resposta da degradação *in situ* da MS, da MO e da FDN das silagens. O inoculante não tem efeito em silagens reensiladas, porém quando as silagens não são reensiladas a sua utilização melhora a degradabilidade ruminal.

Referencias

Anjos, G.V.S., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Keller, K.M., Coelho, M.M., Michel, P.H.F., Ottoni, D., Jayme, D.G., 2018. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *J. Dairy Sci.* 101, 6047 – 6054.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Behling Neto, A., Reis, R.H.P., Cabral, L.S., Abreu, L.G., Sousa, D., Sousa, F.G., 2017. Nutritional value of sorghum silage of different purposes. *Ciênc. Agrotec.* 41, 288-299.

Bernardes, T.F., Rêgo, A.C., 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 97. 1852-1861.

Chen, I., Weinberg, Z.G., 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *J. Dairy Sci.* 97, 406–410.

Coelho, M.M., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Keller, K.M., Anjos, G.V.S., Ottoni, D., Michel, P.H.F., Jayme, D.G., 2018. Chemical Characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. *Pesq. Agropec. Bras.* 53. 1045-1052.

Filya, I., 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 1080–1086.

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. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33, 353–358.

- Jalilvand, G., Torshizi, F.F., Salari, M., Moghaddam, M., 2015. Determining of Degradation Parameters of Sorghum Silage with Different Levels of Fibrolytic Enzymes Using in Situ Technique. *Global J. Anim. Scient. Research.* 3. 393-402.
- Kung Junior, L., 2001. Silage fermentation and additives. In: *Science and technology in the feed industry.* 17. 2001. Nottingham. Proceedings... Nottingham: Nottingham University Press. 2001. 45-159.
- Kung Junior, L., Stokes, M.R., Lin, C.J., 2003. Silage additives. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.) *Silage science and technology.* Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA. 305-360.
- Lima, E.M., Gonçalves, L.C., Keller, K.M., Rodrigues, J.A.S., Santos, F.P.C., Michel, P.H.F., Raposo, V.S., 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. *Can. J. Anim. Sci.* 97. 250-257.
- McDONALD, J., 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agricult. Sci.* 96. 251-252.
- McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S., 1991. *The biochemistry of silage.* 2^a ed. Marlow: Chalcombe Publications. 340p.
- Michel, P.H.F., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Keller, K.M.; Raposo, V.S., Lima, E.M., Santos, F.P.C., Jayme, D.G., 2017. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. *Grass Forage Sci.* 72, 432-440.
- MUCK, R.E., 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 183-191.
- Ørskov, E.R., McDonald, J. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed in weighted according to rate of passage. *J. Agricult. Sci.* 92, 499-503.
- Pagella, J.H., Mayes, R.W., Pérez-Barbería, F. J., Ørskov, E. R., 2018. The development of an intraruminal nylon bag technique using non-fistulated animals to assess the rumen degradability of dietary plant materials. *Animal.* 12. 54-65.

- Pires, D.A.A., Gonçalves, L.C., Rodrigues, J.A.S., Jayme, D.G., Guimarães Júnior, R., Rodríguez, N.M., Borges, A.L.C.C., Jayme, C.G., Botelho, P.R.F., Lima, L.O.B., 2009. Degradabilidade *in situ* das frações fibrosas da silagem de sorgo. Rev. Bras. Milho Sorgo. 8. 175-185.
- Sampaio, I. B. M. 1988. Experimental designs and modeling techniques in the study of roughages degradation in rumen and growth of ruminants. Thesis (D.Sc). University of Reading, Reading, UK.
- Silva, J.S., Borges, A.L.C.C., Lopes F.C.F., Silva, R.R., Vieira, A.R., Duque, A.C.A., Borges, I., Rodrigues, J.A.S., Gonçalves, L.C, 2014. Degradabilidade ruminal *in situ* do sorgo grão em diferentes formas de reconstituição. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 66. 1822-1830.
- Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A., Borreani, G., 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. J. Dairy Sci. 94. 1409–1419.
- Thomas, M.E., Foster, J.L., Mccuiston, K.C., Redmon, L.A., Jessup, W., 2013. Nutritive value, fermentation characteristics, and *in situ* disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. J. Dairy Sci. 96. 7120-7131.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.
- Weinberberg, Z.G., Chen, Y., Gamburg, M., 2004. The passage of lactic acid bacteria from silage into rumen fluid *in vitro* studies. J. Dairy Sci. 87, 3386-3397.
- Weinberberg, Z.G., Muck, R.E., Weimer, P.J., 2003. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. J. Applied Microbiol. 94. 1066-1071.
- Weinberg, Z.G., Ashbell, G., Bolsen, K.K., Pahlow, G., Hen, Y., Azrieli, A. (1995a) The effect of a propionic acid bacterial inoculant applied at ensiling, with or without lactic acid bacteria, on the aerobic stability of pearl millet and maize silages. J. Applied Bacteriol. 78, 430–436.
- Weinberg, Z.G., Ashbell, G., Hen Y., Azrieli, A. (1995b) The effect of a propionic acid bacterial inoculant applied at ensiling on the aerobic stability of wheat and sorghum silages. J. Ind. Microbiol. 15, 493–497.

Wilkinson, J.M., Davies, D.R., 2012. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass Forage Sci.* 68, 1 –19.

Weiss, W.P., 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61, Proceedings... Ithaca: Cornell University, p.176-185.

Zhang, C., Brandt, M.J., Schwab, C., Gänzle, M.G., 2010. Propionic acid production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. *Food Microbiol.* 27, 390-395.