

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Guilherme Lobato Menezes

**ENSILAGEM DOZE HORAS APÓS A COLHEITA E USO DE INOCULANTE
MICROBIANO NA QUALIDADE DE SILAGEM DE MILHO**

Belo Horizonte

2020

Guilherme Lobato Menezes

**ENSILAGEM DOZE HORAS APÓS A COLHEITA E USO DE INOCULANTE MICROBIANO NA
QUALIDADE DE SILAGEM DE MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição de Ruminantes.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte – MG

2020

Menezes, Guilherme Lobato Menezes, 1989-

Ensilagem doze horas após a colheita e uso de inoculante microbiano na qualidade de silagem de milho/ Guilherme Lobato Menezes. – 2020.
52p.: il.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

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

CDD - 633.2

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569



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

FOLHA DE APROVAÇÃO

ENSILAGEM DOZE HORAS APÓS A COLHEITA E USO DE INOCULANTE MICROBIANO NA QUALIDADE DE SILAGEM DE MILHO

GUILHERME LOBATO MENEZES

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia 26 de fevereiro de 2020, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Cristiano Gonzaga Jayme

IFET Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba

Lúcio Carlos Gonçalves

Universidade Federal de Minas Gerais

Diogo Gonzaga Jayme - Orientador

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 21 de dezembro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Angela Maria Quintão Lana**, Coordenador(a) de curso de pós-graduação, em 21/12/2022, às 15:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1983283** e o código CRC **B8D7EE4B**.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Alair José Menezes e Maria das Graças Morato Lobato Menezes, que me apoiaram e permitiram que eu chegasse aqui.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus pela saúde e paz.

Ao Professor Diogo Gonzaga Jayme por ter me recebido de portas abertas, pela consideração, respeito e por todos os ensinamentos. Ao Professor Lúcio Carlos Gonçalves pela atenção, companheirismo, orientação dentro e fora da sala de aula.

Aos meus pais, Alair e Maria das Graças, por todo carinho e cuidado ao longo da vida. À minha irmã Izabella pelo apoio e conselhos.

Meus grandes amigos e mentores Professor Rafahel e Professor Rogério por todo ensinamento, carinho, atenção e orientação durante todos esses anos.

Aos meus padrinhos Renato, Roberta e Cristiane por me tratarem como filho.

À minha namorada Jéssica por ter me apoiado durante toda essa jornada com paciência e atenção. Por ter me dado força nos momentos mais difíceis e por tornar essa caminhada mais alegre.

Aos meus amigos Frederico, Alan, Pamella e Tainá, companheiros dos cursos de excel e da pós, responsáveis por muitos momentos felizes e por grande parte da minha formação. Sem o apoio de vocês não teria chegado aqui tão rápido.

Ao Daniel por ter ajudado muito durante o experimento, e ao Rafael que nos apoiou no laboratório de nutrição.

Agradeço também à República Norte por ter me recebido todos esses anos com carinho e atenção. A minha preparação para entrar aqui foi feita ao lado de vocês.

Meus avós que foram fontes de inspiração para fazer o curso de Medicina Veterinária em especial ao meu avô Euro que foi um grande amigo, que me ensinou, apoiou e foi responsável por grande parte dos valores que não esqueço.

Aos meus amigos Pedro Fonseca e Helber pela amizade, por todos os ensinamentos profissionais, de vida e por confiarem em meu trabalho. Me apoiando em momentos chave.

Para concluir gostaria de agradecer a todos meus familiares e amigos que contribuíram de forma direta e indireta para a minha formação, se eu citar a contribuição de cada um em minha vida não caberia nesta dissertação.

“No que diz respeito ao empenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo. Ou você faz uma coisa bem feita ou não faz.”

Ayrton Senna

RESUMO

O comércio de silagens é crescente no Brasil, por diferentes fatores as fazendas realizam a compra de volumoso e ensilam em sua propriedade. Para o produtor rural, a decisão entre comprar o material ensilado ou a planta verde ainda é um impasse. Ao comprar o material ensilado, os riscos estão associados à perda de estabilidade aeróbia. Ao comprar a planta inteira os riscos estão associados aos processos de respiração. Para mitigar essas perdas, inoculantes microbianos podem ser utilizados. Sendo assim, objetivou-se determinar o efeito da exposição ao ar antes da ensilagem e do uso de inoculante com bactérias heterofermentativas na silagem de milho. O material verde foi picado e dividido em 4 frações. Dessas, duas frações não foram expostas ao ar e em uma delas foi aplicado inoculante bacteriano com cepas heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri* + *Propionobacterium acidipropionici*) na concentração de 2g por tonelada de silagem. As outras duas frações restantes foram expostas ao ar por 12h e ensiladas em seguida com e sem inoculante. O material foi ensilado em baldes de 20 L. Foram avaliados estabilidade aeróbia, composição química, parâmetros fermentativos, digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), contagem de micro-organismos e perdas. A interação da exposição ao ar e do uso de inoculante microbiano ocasionou menores ($P<0,05$) (21%) perdas totais. A composição química não foi influenciada pela utilização do inoculante, enquanto a exposição ao ar aumentou ($P<0,05$) as concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) e diminuiu ($P<0,05$) a de carboidratos não fibrosos (CNF). A DIVMS e a estabilidade aeróbia não diferiram entre os tratamentos. A exposição reduziu o valor nutritivo e o uso de inoculante não foi efetivo em reduzir a perda do valor nutritivo e da estabilidade aeróbia.

Palavras-chave: deterioração aeróbia, *Lactobacillus buchneri*, *Propionobacterium acidipropionici*, respiração.

ABSTRACT

The silage trade is growing in Brazil, for different reasons the farms buy bulk and ensile it on their property. For the rural producer, the decision between buying the ensiled material or the green plant is still an impasse. When buying ensiled material, risks are associated with the loss of aerobic stability. When buying the whole plant the risks are associated with respiration processes. To mitigate these losses, microbial inoculants can be used. Therefore, the objective was to determine the effect of exposure to air before ensiling and the use of inoculant with heterofermentative bacteria on corn silage. The green material was chopped and divided into 4 fractions. Of these, two fractions were not exposed to air and in one of them a bacterial inoculant with heterofermentative strains (*Lactobacillus buchneri* + *Propionobacterium acidipropionici*) was applied at a concentration of 2g per ton of silage. The other two remaining fractions were exposed to air for 12 hours and then ensiled with and without inoculant. The material was ensiled in 20 L buckets. Aerobic stability, chemical composition, fermentation parameters, in vitro dry matter digestibility (DIVMS), microorganism count and losses were evaluated. The interaction of exposure to air and use of microbial inoculant caused lower ($P<0.05$) (21%) total losses. The chemical composition was not influenced by the use of the inoculant, while exposure to air increased ($P<0.05$) the concentrations of neutral detergent fiber (NDF) and decreased ($P<0.05$) that of non-fibrous carbohydrates (CNF). IVMSD and aerobic stability did not differ between treatments. Exposure reduced the nutritive value and the use of inoculant was not effective in reducing the loss of nutritive value and aerobic stability.

Keywords: aerobic deterioration, *Lactobacillus buchneri*, *Propionobacterium acidipropionici*, respiration.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Temperatura atingida (°C) pela silagem de milho durante a exposição ao ar antes da ensilagem

Tabela 2 - Perdas por gases, por efluentes e perdas totais de matéria seca de silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

Tabela 3 - Parâmetros de qualidade da fermentação de silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

Tabela 4 - Composição bromatológica de silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

Tabela 5 - Estabilidade aeróbia (h) e contagem de micro-organismos (\log^{10} ufc/g) em silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIEC = Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne
CNF = Carboidratos Não Fibrosos
C MIC. = Contagem microbiana
DIVMS = Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca
DRBC = Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar
Embrapa = Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EA = Estabilidade aeróbia
EE = Extrato Etéreo
EPM = Erro Padrão da Média
FDA = Fibra em Detergente Ácido
FDN = Fibra em Detergente Neutro
GL = Grão Leitoso
GF = Grão Farináceo
Ha = Hectare
I = Inoculante
EXP = Exposição ao ar
LB = *Lactobacillus buchneri*
LIG = Lignina
MS = Matéria Seca
MO = Matéria Orgânica
NH₃ = Nitrogênio Amoniacal
N-NH₃/NT = Nitrogênio amoniacal em percentagem do nitrogênio total
NNP = Nitrogênio não proteico
NPK = Nitrogênio, Fósforo, Potássio
NS = Não Significativo
PA = *Propionobacterium acidipropionici*
Pab = Peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura
PB = Proteína Bruta
PCA = Ágar Contagem Padrão
PCab = Peso do balde cheio na abertura
PCen = Peso do balde cheio na ensilagem
PE = Perdas por efluente
Pef = Peso de efluente
Pen = Peso do conjunto (balde vazio + tampa + areia seca + saco) na ensilagem
PIB = Produto interno bruto
PMS = Perda total de MS
SIL = Silagem
TGY = Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar

Sumário

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	12
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1. Pecuária Brasileira e estacionalidade na produção de forragem	13
2.2. Milho, características e produção de silagem.....	14
2.3. Ensilagem	15
2.4. Exposição ao ar e respiração.....	17
2.5. Estabilidade aeróbia.....	18
2.6. Parâmetros fermentativos de silagens de milho	21
2.7. Valor Nutricional	24
2.8. Inoculante microbiano	26
3 REFERÊNCIAS	29
CAPÍTULO 2 – ARTIGO.....	34

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca mundialmente no segmento pecuário, porém convive com padrões produtivos muito heterogêneos. A sazonalidade da produção de forrageiras tropicais é um fator impulsionador dos baixos índices de desempenho (Domingues et al., 2011).

O milho (*Zea mays L.*) é a forrageira mais utilizada para ensilagem nas propriedades brasileiras. Esse alimento apresenta processos simples e bem definidos de plantio e colheita, elevado valor nutritivo, alta produção de matéria seca, características ideais ao processo fermentativo e boa aceitação pelos bovinos (Backes et al., 2001; Daniel et al., 2011). No Brasil, 82,7% das propriedades rurais utilizam essa planta para ensilagem sozinha ou associada com outra espécie forrageira (Bernardes e Rego, 2014).

O número de propriedades que compram volumoso cresce a cada ano no país. Os motivos são de ordem estratégica pelo tamanho da propriedade, falta de mão de obra ou de maquinário especializado, inaptidão agrícola das propriedades ou ainda por falha de planejamento (Michel et al., 2016; Lima et al., 2017; Dos Anjos et al., 2018). Esse processo envolve a compra da ensilagem ou do material verde, o transporte desse material e o seu armazenamento na fazenda de destino.

Durante o transporte, pode ocorrer diminuição do valor nutritivo do alimento independentemente da estratégia empregada: compra da silagem ou compra da lavoura. Quando há a compra da silagem as perdas são principalmente relacionadas à exposição do material ensilado ao ar e à reativação de micro-organismos aeróbios, causando deterioração aeróbia (Michel et al., 2016; Lima et al., 2017; Dos Anjos et al., 2018). Já quando há a compra da lavoura as perdas ocorrem por processos de respiração em que o material continua utilizando carboidratos solúveis (Bruning et al., 2017). Durante a exposição do material ao ar, pode ocorrer aumento da contaminação por leveduras. Sabe-se que as leveduras são capazes de sobreviver mesmo em baixo pH. Quando o material ensilado é exposto ao ar, essas leveduras consomem ácidos orgânicos para crescimento e aumentam o pH. Silagens com alta contagem de leveduras são mais propensas à deterioração aeróbia (McDonald et al., 1991).

Com o intuito de diminuir as perdas, a utilização dos inoculantes microbianos pode aumentar a estabilidade aeróbia e melhorar os padrões fermentativos no processo de ensilagem. Entretanto, os resultados da literatura são muito inconsistentes (Michel et al., 2016; Dos Anjos et al., 2017; Coelho et al., 2018). A escolha da cepa microbiana a ser utilizada deve estar alinhada ao objetivo de utilização e aos desafios proporcionados pelo sistema produtivo. Os custos adicionais e as perdas do material ensilado devem ser mensurados para avaliação do retorno sobre o capital investido na tecnologia e assim possibilitar decisões assertivas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Pecuária Brasileira e estacionalidade na produção de forragem

A pecuária no Brasil tem posição de destaque no mundo. Segundo dados do IBGE de 2018, o rebanho de bovinos no país equivale a 213.523.956 cabeças de gado. A pecuária de corte, segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC) publicados em 2019, somou R\$ 597,22 bilhões em 2018, representando 8,7% do produto interno bruto (PIB) nacional. Já a produção de leite cresceu 271% entre os anos 1974 e 2017, segundo dados do anuário leite de 2019 publicado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). No ano de 2018, 24,46 bilhões de litros de leite foram produzidos, tornando o país o terceiro maior produtor do mundo.

Entretanto, os dados de produtividade no país ainda são bastante heterogêneos. Uma parte desse resultado é justificada pelo manejo nutricional inadequado ocasionado pela ineficiência produtiva de alimentos. No país, 70% das pastagens possui algum grau de degradação (Dias filho, 2014). Além disso, o país é caracterizado pela sazonalidade climática que divide o ano em estação chuvosa, conhecida como safra e estação seca, conhecida como entressafra. Nesse contexto, é necessário planejamento para fornecimento do alimento volumoso de qualidade e em quantidade ao longo do ano.

Uma das principais formas de conservação de alimentos volumosos é a ensilagem. Na ensilagem, as bactérias ácido lácticas (BAL) convertem carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente no ácido lático. O ácido lático provoca a queda do pH e em ambiente anaeróbio, promove a conservação da forragem.

Para produção de silagem, é necessária a escolha de uma forragem que possua as características ideais ao processo, tais como teor de matéria seca (MS) adequado (30 a 35%) e com bom valor nutritivo, concentração mínima de 3% de carboidratos solúveis na matéria natural, baixo poder tampão e boa fermentação microbiana. Esses fatores associados a facilidade de plantio, alta produtividade e boa aceitação pelos animais tornam uma cultura ideal ao processo de ensilagem (Nussio et al., 2001; Ashbell et al., 2002).

A silagem de milho é o volumoso mais utilizado no Brasil (Bernardes e Rego, 2014). Um dos fatores impulsionadores desse contexto é o fato de a forragem possuir as características produtivas e nutricionais ideais ao processo. Alguns produtores não possuem aptidão produtiva e, nesse cenário, muitas vezes se torna mais barato comprar a silagem do que produzi-la, crescendo assim o comércio de silagem no Brasil. Segundo Rabelo et al. (2017), a silagem de milho pode ser adquirida em média por R\$ 250,00/ton. Para decidir se o melhor é produzir ou comprar o material, é necessário conhecer a estrutura de custo da propriedade, mensurar as perdas e a produtividade da lavoura.

2.2. Milho, características e produção de silagem

O milho é um dos cereais mais produzidos no mundo e o Brasil se destaca no cenário mundial. Segundo dados da Conab (2020), na safra 2018/2019 foi cultivada uma área de 17,49 milhões de hectares (ha) com uma produção de 100,042 milhões de toneladas (t) de grão.

A silagem de milho (*Zea mays*, L.) é uma boa fonte de volumoso para ser utilizada em sistemas de produção de animais confinados em função do elevado valor nutritivo, da alta produção de matéria seca e por possuir características ideais ao processo de ensilagem. Entre as características preconizadas, são observados teor de matéria seca (MS) adequado (30 a 35 %) com bom valor nutritivo, concentração mínima de 3% de carboidratos solúveis na matéria natural, baixo poder tampão e boa fermentação microbiana (Nussio et al., 2001). Esses fatores associados a facilidade de plantio, alta produtividade e boa aceitação pelos animais viabilizam a utilização dessa cultura na alimentação de ruminantes.

Em um levantamento realizado em 270 fazendas no Brasil, 82,7% utilizavam apenas milho ou em combinação com outras espécies forrageiras na alimentação animal

(Bernardes e Rego, 2014). Em fazendas americanas, asiáticas e europeias esse cenário não é diferente, o milho assume lugar de destaque (Gallo et al., 2015).

O valor nutricional da silagem de milho está diretamente relacionado com as características do material ensilado. Além do objetivo de elevada produção de matéria seca, são preconizadas altas concentrações de energia e fibras de boa qualidade (Paziani et al., 2009).

Em sistemas confinados ou semiconfinados, a silagem de milho é considerada a melhor opção para prover desempenho aos animais. No entanto, para que isso ocorra, é importante colher o milho no momento correto. A operação de campo deve ocorrer quando o milho mudar de 1/2 para 2/3 da linha do leite no grão. Entretanto, a maneira mais correta é medindo o teor matéria seca (MS ideal colheita 30 e 35%) (Nussio et al., 2001).

2.3. Ensilagem

A ensilagem é um método de conservação de alimentos. A realização adequada do processo passa por uma compactação contínua até remover o máximo de oxigênio (O₂) possível da massa ensilada e por uma vedação do silo (Chen et al., 2014). O processo envolve o armazenamento do material no silo e sua conservação pela fermentação anaeróbia e abaixamento do pH. As BAL, sejam elas homofermentativas ou heterofermentativas, convertem carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático. O ambiente anaeróbio, associado ao baixo pH, inibe o crescimento de micro-organismos e preserva os nutrientes da planta (Ranjit e Kung., 1999). O ambiente anaeróbio é criado a partir do processo de respiração até que o oxigênio seja esgotado da massa de forragem, ocorrendo a produção de ácido lático e a queda do pH (Ashbell et al., 2002).

O sucesso da técnica envolve a rápida queda do pH e o estabelecimento de ambiente anaeróbio. O objetivo é conservar o maior percentual de nutrientes digestíveis da forragem original (Woolford, 1990; McDonald et al., 1991; Lima et al., 2017).

As BAL homofermentativas ou heterofermentativas envolvidas no processo, podem ocorrer simultaneamente na silagem. O principal produto das homofermentativas é o ácido lático. Já as heterofermentativas, além do ácido lático, adiciona-se etanol ou

acetato e CO_2 . A via homolática é mais eficiente em reduzir a perda de energia na silagem em relação a via heterolática (Pahlow et al., 2003).

Segundo McDonald (1991) e Weinberg e Muck (1996), o processo de ensilagem pode ser dividido em quatro fases:

Fase 1- Pré-fechamento do silo ou fase aeróbia: Essa fase envolve a colheita, a picagem e o transporte do material para o local onde será ensilado. O objetivo é remover O_2 o mais rápido possível, pois nessa fase ocorre respiração das plantas, atividades de proteases e micro-organismos aeróbios.

Fase 2 – Fermentação ativa: Ocorre após o meio ficar anaeróbio. Nessa fase, há predomínio de BAL, diminuindo o pH e inibindo o crescimento de micro-organismos indesejáveis.

Fase 3 – Fermentação estável: Ocorre estabilização dos processos fermentativos, as BAL dominam a massa ensilada e o pH se mantém estável em torno de 4. Não há presença de oxigênio.

Fase 4 - Abertura do silo: Durante essa fase, ocorre exposição do material ao O_2 . Micro-organismos aeróbios principalmente leveduras, fungos e bactérias ácido acéticas são reativados, consumindo ácido lático e açúcares solúveis residuais. Esses micro-organismos aumentam o pH do material ensilado e diminuem o valor nutricional.

As perdas de matéria seca podem ocorrer em qualquer uma dessas fases, porém os principais ocasionadores de perdas são o processo de respiração que ocorre no campo, a fermentação no silo, a produção de efluentes e a deterioração aeróbia por exposição ao oxigênio (Borreani et al., 2017). O gerenciamento das operações que ocorrem nas fases 1 e 4 é fundamental para mitigar as perdas por processos de respiração e deterioração aeróbia.

Os principais fatores que influenciam o processo de ensilagem são a respiração, a atividade enzimática após fechamento do silo e a atividade de clostrídios e de micro-organismos aeróbios após abertura do silo (Muck, 1988). Por essa razão, é importante colher a forragem no momento correto e realizar a vedação o mais rápido possível.

O objetivo de ensilar o volumoso é manter a distribuição de alimentos de qualidade ao longo do ano. Entretanto, o processo de conservação adequado é importante

na manutenção do valor nutricional do alimento. Variações de 3 a 12 unidades no teor de FDN na MS podem influenciar o valor nutritivo da silagem (Rotz e Muck, 1994).

Durante o período de estabilidade da silagem é necessário manter a anaerobiose. A entrada de oxigênio pode reativar alguns micro-organismos aeróbios como as leveduras e pode causar processo de deterioração (Lima et al., 2017).

2.4. Exposição ao ar e respiração

Durante o processo de ensilagem, existem algumas etapas que expõem o material ao ar, entre elas estão as fases de colheita e enchimento do silo. Nesses períodos, ocorre a exposição do material ao ar, predispondo-o a perdas ocasionadas pela respiração. Essas perdas são inerentes ao processo, porém podem ser maiores quanto maior a exposição. A expulsão do ar no momento de ensilagem diminui a respiração da planta por diminuir a disponibilidade de oxigênio e mantém os carboidratos solúveis para a fermentação e a queda do pH. Os fatores que mais afetam a deterioração aeróbia são concentração de O₂, temperatura, atividade de água, pH e as concentrações de ácidos orgânicos (Muck e Pitt, 1993).

A compra da lavoura para ensilagem aumenta a exposição ao ar anterior à vedação e pode aumentar a população de leveduras. Essas permanecem inativas durante a fase estável e são reativadas quando o silo entra em contato novamente com o oxigênio, diminuindo a estabilidade da silagem após exposição ao ar (Ashbell et al., 2002; Pahlow et al., 2003).

Além do aumento na contagem de leveduras, outro fenômeno que ocorre durante a fase de respiração é a perda de carboidratos solúveis e concentração de outras frações como PB, FDN, fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG). Entretanto, o aumento no teor de proteína bruta não se reflete em maiores concentrações de proteína verdadeira, pois parte dela é convertida em nitrogênio não proteico (NNP) (Rotz e Muck, 1994).

A silagem após o corte ainda está metabolicamente ativa. Esse processo auxilia na expulsão do oxigênio do interior da massa ensilada (Borreani et al., 2017). Durante a fase respiratória, são obtidos como produtos dióxido de carbono, água, amônia livre e calor (McAllister e Hristov, 2000).

A partir da produção de calor, pode ocorrer aumento de produtos da reação de “Maillard” (Jobim et al., 1997). Nessa reação ocorre ligação de grupos aminoácídicos

livres, peptídeos, proteínas e os grupos hidroxil-glucosídicos dos açúcares redutores, reduzindo a disponibilidade e o valor nutritivo das frações proteicas ou ainda desnaturação da proteína (Nunes e Baptista, 2001). Após a massa verde de milho com grãos farináceos (GF) ou grãos leitosos (GL) ser exposta ao ar por 12, 24 e 36 horas, os GF apresentaram aumento de temperatura em 30,4, 36,8 e 37,0°C. Entretanto nos GL, os aumentos foram maiores 39,4, 38,8 e 41,6°C para cada tempo de exposição (Velho et al., 2006). A maior temperatura no grão leitoso pode ser explicada pela maior concentração de carboidratos solúveis.

Atrasar a vedação em quatro dias pode ocasionar em perdas de até 11%, aumento na concentração de leveduras e um declínio de até 65% nos carboidratos solúveis (Bruning et al., 2017).

2.5. Estabilidade aeróbia

A ensilagem é um método de conservação de culturas úmidas. Se não realizado de forma adequada, pode favorecer o crescimento de micro-organismos indesejáveis que alteram a qualidade do alimento (Chen et al., 2014). O processo fermentativo controla a maior parte desses micro-organismos, porém a manutenção do ambiente anaeróbio é fundamental para inibir o crescimento de leveduras, fungos filamentosos e bactérias aeróbias (Muck, 2010).

Quando o material é exposto ao ar, ocorre reativação de micro-organismos causadores da deterioração. Os micro-organismos envolvidos na deterioração aeróbia são divididos em dois grupos: as utilizadoras de ácidos orgânicos, como os gêneros *Cândida*, *Endomycopsis*, *Hansenula* e *Pichia* e as que utilizam açúcares, como o gênero *Torulopsis*. As leveduras iniciam o processo de deterioração, pois podem ficar inativas dentro do silo até que ele seja aberto e o ar entre novamente na massa ensilada (Rocha et al., 2006). Quanto maior a duração da exposição após a abertura, maior o crescimento dos micro-organismos. A contagem de leveduras cresce mais rapidamente do que fungos e bactérias, destacando o papel de iniciadores da deterioração aeróbia (Bruning et al., 2017).

Esse processo causa prejuízos econômicos em todo o mundo, afetando a qualidade das silagens (Tabacco et al., 2011). A perda da estabilidade aeróbia é mensurada pelo número de horas gasto para a silagem mostrar aumento de 2°C acima da temperatura ambiente (Hu et al., 2009). Ter boa estabilidade aeróbia é um fator importante para manter

a qualidade da silagem já que em alguns pontos do silo, como as áreas periféricas, o ar pode penetrar por até quatro metros da superfície de alimentação (Robinson e Swanepoel, 2016). Durante o processo de deterioração, inicia-se o consumo de carboidratos solúveis e em seguida os mais complexos. Leveduras e bactérias produtoras de ácido acético são as principais causadoras da deterioração das silagens, pois metabolizam ácido láctico, aumentando o pH e ocasiona o crescimento de fungos e bactérias aeróbias (Pahlow et al., 2003; Wilkinson e Davies, 2012; Tangni et al., 2013). As perdas são maiores quanto maior a intensidade de exposição ao ar, tempo e qualidade da silagem, sendo maior a perda quanto melhor a silagem devido às altas concentrações de lactato (McDonald et al., 1991; Muck, 2010).

Fungos não são capazes de crescer em meio ácido, desenvolvendo-se após o aumento do pH que ocorre em decorrência do crescimento de leveduras. Os principais gêneros de fungos são *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssochlamys*, *Arthriniun*, *Geotrichum* e *Monascus*. Eles assumem um importante papel na redução do valor nutricional dos alimentos. Durante seu crescimento, ocorre consumo de açúcares, lactato e celulose, aumentando a temperatura e diminuindo as fontes energéticas do alimento (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003).

Assim como o tempo de exposição, a temperatura ambiente influencia na estabilidade aeróbia do material. Ashbell et al. (2002) avaliaram a contagem de leveduras, pH e deterioração em silagens expostas ao ar por 3 ou 6 dias a 10, 20, 30 ou 40°C. A silagem exposta a 30° C apresentou maior ($P<0,05$) pH, produção de CO₂ e contagem de leveduras.

Silagens com vedação atrasada também podem apresentar menor estabilidade aeróbia (EA) por maior contaminação e desenvolvimento de leveduras. Essas permanecem inativas mesmo na ausência de oxigênio e sob baixo pH (Pahlow et al., 2003). Brüning et al. (2017) avaliaram o efeito do atraso de 48 e 96 horas na vedação do silo associado a baixa ou a alta intensidade de compactação. O efeito da compactação não foi significativo na estabilidade aeróbia. Entretanto, o atraso na vedação de 48 horas diminuiu ($p=0,06$) a estabilidade em 12 horas e o atraso de 96 horas diminuiu ($p=0,01$) em 28,5 horas.

Quando bem conservadas, silagens expostas ao ar apresentam boa EA. Silagem de milho não inoculada, exposta ao ar durante 12, 24, e 48 horas e reensilada não apresentou diferença na EA por até 200 horas (Lima et al., 2017). Entretanto, alguns trabalhos demonstraram EA em silagens não inoculadas entre 51,0 e 65,5 horas (Hu et al., 2009; Neto et al., 2013), que são suficientes para manter a qualidade do alimento durante o fornecimento diário aos animais em silagens bem compactadas. Todavia quando considerada a comercialização de silagem, o tempo gasto durante o processo pode superar o período de EA da silagem e causar perdas. Essas podem ser acentuadas em temperaturas superiores a 30°C por acelerar o crescimento de micro-organismos (Koc et al., 2009). Como fatores relacionados à temperatura não podem ser controlados, estudos recentes têm avaliado inoculantes microbianos ácido lácticos heterofermentativos no controle da deterioração que ocorre pela maior concentração de ácido acético, com propósito de melhorar a EA dos materiais ensilados (Zopollato et al., 2009; Tabacco et al., 2011; Salvo et al., 2013). Silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* apresentaram maior ($p<0,01$) EA (185,5 horas) em relação ao grupo controle (50,5 horas), aumento de 3,7 vezes. (Hu et al., 2009). Em um estudo que avaliou a EA em silos coletados a campo, silagens inoculadas com *L. buchneri* aumentaram ($p=0,02$) 1,65 vezes a EA, permanecendo esses silos estáveis por 76 horas (Mari et al., 2009). Em silagem de milho inoculada com *L. buchneri*, *L. plantarum* e um grupo controle durante 0, 7 e 14 dias de exposição ao ar, a inoculação com *L. buchneri* manteve a EA por 12 dias (Tabacco et al., 2011).

Entretanto, os resultados de EA encontrados na literatura são muito controversos. Neto et al. (2013) não observaram diferença ($p>0,05$) nesse parâmetro em silagens de milho armazenadas por 150 dias inoculadas com *L. buchneri*, *L. buchneri* + *L. plantarum* e sem inoculante. Em média, as perdas da estabilidade ocorreram após 63,09 h. O efeito da exposição ao ar e reensilagem em silagens de milho e sorgo inoculadas com *L. plantarum* e *P. acidipropionici* não apresentaram alteração sobre a EA (Michel et al., 2016; Coelho et al., 2018; Dos Anjos et al., 2018).

Basso et al. (2012) avaliaram EA em silagem de milho inoculada com diferentes cepas de *L. buchneri* comparado ao grupo controle. Em média as silagens com *L. buchneri* aumentaram ($P<0,05$) a estabilidade aeróbia em 140 horas (47 e 187 horas, respectivamente).

No momento da ensilagem, foram verificadas contagens médias de leveduras de 6,65 log₁₀ cfu/g de forragem (Neto et al., 2013). Em situações onde há maior exposição ao ar antes da ensilagem, pode ocorrer o aumento na população de leveduras. Entretanto, na exposição ao ar de silagem de milho por 0, 12, 24 e 48 horas, não foi observada alteração na contagem de leveduras (Lima et al., 2017). Silagens de sorgo expostas por 24 h ao ar, inoculada ou não com *Lactobacillus plantarum*, *Propionibacterium acidipropionici*, não sofreram influência na contagem de levedura total, sendo observado em média 10,28 (log₁₀ cfu/g) (Michel et al., 2016). Resultado semelhante foi observado por Coelho et al. (2018), que avaliaram silagem de milho exposta por 36 h ao ar, as contagens de levedura foram, em média, 7,44 (log₁₀ cfu/g). Já a contagem de fungos e bactérias totais também não se alteraram nesses experimentos, possivelmente em função da qualidade do material ensilado e do processo de ensilagem (Chen et al., 2014; Michel et al., 2016; Coelho et al., 2018).

2.6. Parâmetros fermentativos de silagens de milho

O teor de MS pode interferir no valor nutricional dos alimentos ensilados. Para produzir uma silagem de boa qualidade, no momento da ensilagem o teor de matéria seca deve estar entre 30 e 35% (McDonald et al. 1991). Silagens colhidas com teor de MS inferior ao preconizado podem proporcionar aumento das perdas por efluentes que carregam nutrientes como carboidratos solúveis, ácidos orgânicos e minerais. Além disso, silagens mais úmidas podem sofrer fermentação clostridial, ocasionando em perdas de MS e valor nutritivo, aumentando ácido butírico e diminuindo a palatabilidade. Valores superiores a 40% de MS não são desejáveis por dificultar o processo de compactação, aumentando a presença de oxigênio e predispondo o desenvolvimento de micro-organismos aeróbios (Jobim et al., 2007).

A redução do crescimento de micro-organismos indesejáveis em silagens é associada à queda do pH em decorrência da produção de lactato em ambiente anaeróbio. Os valores de pH ideais para conservar o alimento estão na faixa de 3,6 a 4,2 (McDonald et al., 1991). O valor de pH pode ficar mais elevado tanto em silagens expostas ao ar quanto em materiais verdes expostos ao ar antes da vedação. Na reensilagem, a exposição ao ar pode reativar micro-organismos aeróbios, sendo as leveduras um dos principais que consomem o ácido lático (Basso, 2012). Na exposição prévia ao ar, o maior valor de pH

pode ocorrer devido à diminuição de substrato para fermentação já que o processo de respiração consome carboidratos solúveis (Ashbell et al., 2002).

O pH também pode ser utilizado como parâmetro indicador da deterioração aeróbica em silagens. O ácido lático é consumido pelas leveduras e como consequência ocorre elevação do pH propiciando o crescimento de fungos e bactérias. Silagens não inoculadas aumentaram ($p < 0,05$) o pH após 4 dias de exposição ao ar. Entretanto, os valores não se alteraram do quarto até o décimo segundo dia. Em média, o pH das silagens expostas por 4 a 12 dias foram 1,4 vezes maiores do que no grupo controle. No grupo tratado com *L. buchneri*, o pH aumentou ($p < 0,05$) a partir do oitavo dia de exposição (Basso, 2012).

Silagens inoculadas com bactérias heterofermentativas também podem apresentar pH mais elevado devido à menor concentração de ácido lático. Hu et al. (2009) observaram maior ($p < 0,01$) pH em silagens inoculadas com *L. buchneri* (3,69) em relação ao controle (3,57). Corroborando com os dados encontrados, Tabacco et al. (2011), observaram maior ($p < 0,01$) pH (3,74) em silagens inoculadas com *L. buchneri* quando comparado ao grupo controle (3,57). No entanto, Neto et al. (2013) não observaram diferença significativa nos valores de pH em silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* ou *L. buchneri* associado ao *L. plantarum* e um grupo controle, com pH médio de 3,75. Silagens de milho inoculadas com quatro diferentes cepas de *L. buchneri* e desensiladas após 45 dias apresentaram menor ($p < 0,01$) pH, com exceção de uma cepa de *L. buchneri*, em relação ao grupo controle ($p = 0,001$) (Silva et al., 2019).

O atraso na vedação também pode ocasionar em aumento nos teores de pH. Em avaliação de silagens de milho com atraso de vedação em 0, 2 e 4 dias associado a baixa ou alta compactação, o valor de pH aumentou ($p < 0,01$) com o aumento do tempo de exposição. Entretanto, o maior pH observado de 3,72, está na faixa ideal entre 3,6 a 4,2 proposta por McDonald et al. (1991). Quando as silagens foram expostas ao ar após abertura do silo, o pH foi superior a 4,2 apenas no tratamento exposto por 6 dias. A concentração de carboidratos solúveis após a exposição diminuiu ($p < 0,01$), ocasionando menor teor de ácido lático ($p < 0,01$) (Bruning et al., 2017).

Silagens inoculadas com cepas heterofermentativas podem apresentar maior perda de MS em função da fermentação dos carboidratos solúveis (McDonald et al., 1991). Entretanto, o teor de MS em silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* e ensiladas

por 45, 90 e 150 dias não diferiu entre os tratamentos (Hu et al., 2009; Tabacco et al., 2011; Neto et al., 2013; Silva et al., 2019). Em estudo realizado em silos inoculados ou não com *L. buchneri* coletados a campo, Mari et al. (2009), também não observaram alterações nos teores de MS.

Silagens de milho expostas ao ar por 7 e 14 dias, silagens inoculadas com *L. buchneri* por até 7 dias apresentaram menor perda de MS em decorrência da melhora na estabilidade aeróbia. Já aos 14 dias, em decorrência da perda de estabilidade, ocorreu perda de MS, no entanto 3 vezes menor que no grupo controle (Tabacco et al., 2011). Silagens inoculadas com *L. buchneri* e ensiladas por 130 dias apresentaram uma diminuição de 7,64% ($P < 0,05$) no teor de MS em relação às silagens controle. Isso pode ter acontecido em função da intensa fermentação ocasionada pela cepa heterofermentativa (Basso, 2012).

A exposição prévia ao ar pode alterar o perfil de ácidos orgânicos devido à menor concentração de carboidratos solúveis. Bruning et al. (2017), avaliaram silagens com alta ou baixa compactação e expostas ao ar por 0, 2 ou 4 dias e observaram menor ($p < 0,01$) concentração de ácido láctico nas silagens expostas ao ar por dois e quatro dias em relação ao grupo controle. As concentrações de ácido acético também foram menores ($P < 0,01$) nas silagens expostas ao ar por dois e quatro dias.

Em silagens inoculadas com *L. buchneri* foram observados aumentos ($p < 0,01$) nas concentrações de ácido acético, os valores foram 2,40 (Tabacco et al., 2011) e 2,59 (Hu et al., 2009) vezes maiores em relação à média dos grupos não tratados. Resultados diferentes foram encontrados por Neto et al. (2013), onde as concentrações de ácido acético no tratamento inoculado com *L. buchneri* foram menores ($p = 0,02$) em comparação ao grupo controle, enquanto as silagens do tratamento com *L. buchneri* + *L. plantarum* obtiveram valores intermediários. Nesses trabalhos em que os autores relataram maiores concentrações de ácido acético, também foram observadas menores ($p < 0,01$) concentrações de ácido láctico (Hu et al., 2009; Tabacco et al., 2011). Já Neto et al. (2013) não observaram nenhuma diferença entre os tratamentos.

Basso et al. (2012) observaram maior ($P < 0,05$) concentração de ácido acético em silagens inoculadas com doses mais altas de *L. buchneri*. Entretanto, as concentrações de

ácido láctico não diferiram entre os tratamentos. Os autores justificam a não alteração do ácido láctico pela via de fermentação do *L. buchneri*. Segundo McDonald et al. (1991), existem duas vias de fermentação por *L. buchneri*: a primeira converte glicose e frutose em ácido láctico, ácido acético, manitol, CO₂ e H₂O; a segunda é capaz de converter o ácido láctico em ácido acético, 1,2 propanodiol e pequenas quantidades de etanol (Elferink et al., 2001).

O atraso na vedação do silo pode aumentar as concentrações NH₃/NT devido a proteólise e atividade microbiana (Rotz e Muck, 1994). Entretanto, Bruning et al. (2017), observaram diminuição (P<0,01) nas concentrações de NH₃/NT em materiais expostos ao ar por 2 ou 4 dias antes da ensilagem. As silagens podem apresentar maiores concentrações de NH₃/NT como resultado da inoculação de *L. buchneri* em função do aumento do pH (Driehuis et al., 2001). Hu et al. (2009) encontraram maiores (P<0,01) concentrações de NH₃/NT em silagens inoculadas com *L. buchneri* em comparação ao grupo controle. Entretanto, em alguns trabalhos essa diferença não tem sido observada (Mari et al., 2009; Tabacco et al., 2011).

As silagens de milho inoculadas com *L. plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* expostas ao ar por 36 horas não apresentaram alterações em nenhum dos parâmetros fermentativos (Coelho et al., 2018).

2.7. Valor Nutricional

Em silagem de milho as duas frações que mais representam a planta são a FDN e o amido (Velho, 2006; Bernardes e Rego, 2014). Qualquer alteração em uma dessas frações pode alterar o valor nutritivo da silagem e impactar no desempenho produtivo dos animais (Machado et al., 2011). Técnicas inadequadas de manejo como atraso no período de fechamento do silo ou exposição ao ar por longo período após ensilagem pode predispor ao aumento das frações fibrosas por perdas de carboidratos solúveis nos processos de respiração e deterioração aeróbia. A respiração inicia-se após o corte da planta. As perdas por exaustão dos nutrientes ocasionadas por esse processo podem aumentar de 3 a 12% os teores de FDN na MS das silagens (Rotz e Muck, 1994). Além das perdas de MS e nutrientes, a vedação atrasada pode ocasionar pior desempenho dos animais em função do pior valor nutritivo e consumo (Kung et al., 1998).

O atraso na vedação aumentou ($P=0,02$) as concentrações de FDN na abertura do silo. As concentrações nas silagens dos tratamentos com 2 e 4 horas de exposição foram 4,27 e 2,97% maiores que nas do grupo controle. As concentrações de amido também diminuíram ($P<0,01$) com a exposição ao ar. A queda nas concentrações de amido pode ocorrer devido a hidrólise enzimática da planta anterior a ensilagem (Muck, 1988; Bruning et al., 2017).

Em silagens de milho expostas ao ar por 12, 24 e 36 horas comparadas ao grupo controle 0 horas, a exposição por 12 horas não diferiu do grupo controle na concentração de carboidratos solúveis, entretanto a exposição por 24 e 36 horas diminuíram ($P<0,05$) 14,02 e 34,75 % os teores de carboidratos solúveis. Esse desvio pode ser justificado por perdas por respiração das plantas e/ou oxidação por micro-organismos aeróbios. Quanto aos teores de FDN e FDA, o tempo de 0 para 36 horas aumentou ($P<0,05$) as concentrações das frações fibrosas em 11,25 e 6,49 %. O aumento da FDA ocorreu concomitante ao aumento ($P<0,05$) de 24,48 % nos teores de LIG na silagem exposta por 36 horas em relação a controle (Velho et al., 2006).

A exposição prévia do material ao ar pode predispor a uma maior contaminação por esporos de leveduras que podem diminuir o tempo de estabilidade aeróbia. Quando ocorre a perda da estabilidade, o valor nutricional do alimento pode ser comprometido pelo crescimento de micro-organismos, aumentando as frações fibrosas e diminuindo a digestibilidade dos nutrientes no alimento (Lima et al., 2017).

Com o objetivo de diminuir as perdas oriundas do processo de deterioração aeróbia e no valor nutricional dos alimentos, têm sido utilizados inoculantes microbianos. Entre os mais utilizados com esse objetivo estão as cepas heterofermentativas. Amostras de silagens colhidas em 31 fazendas localizadas em Wisconsin, Pensilvânia e Minnesota com e sem inoculante *L. buchneri*, não apresentaram alterações nos percentuais de MS, PB, FDN e FDA (Mari et al., 2009).

Tabaco et al. (2011) avaliaram o efeito da inoculação do *L. buchneri* e o tempo de exposição ao ar pós abertura do silo de milho por 0, 7 e 14 dias. O tratamento com inoculante após 14 horas de exposição ao ar diminuiu ($p<0,001$) em 47,94% as concentrações de PB e 18,17 % as de lignina em detergente ácido (LDA) ($p=0,023$) em relação ao grupo controle. O tempo de exposição ao ar influenciou todos os parâmetros, exceto extrato etéreo e as hemiceluloses. A perda da estabilidade aeróbia do tratamento

com inóculo ocorreu 12 dias após abertura. Esse fato contribui efetivamente para a manutenção do valor nutricional da forragem na avaliação de 7 dias após abertura. Silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* ensiladas por 165 dias não alteraram os teores de MS, matéria orgânica (MO), PB, CNF, extrato etéreo (EE), FDN, FDA e nutrientes digestíveis totais (NDT) (Salvo et al., 2013).

Silagens de milho expostas ao ar ou com processo de vedação atrasado podem aumentar a fração fibrosa. Lima et al. (2017) não verificaram diferença na composição química e qualidade de silagens expostas ao ar e reensiladas. Entretanto, Chen et al. (2014) e Michel et al. (2016), respectivamente, verificaram uma redução para digestibilidade in vitro da matéria seca das silagens de milho e sorgo reensiladas.

O aumento da exposição ao ar anterior a vedação pode ocasionar em aumento da temperatura da silagem que pode chegar a 40°C e, por exposição prolongada, ocasionar em desnaturação das proteínas. A desnaturação ocorre lentamente abaixo de 38°C, dobrando a cada incremento de 14°C acima desse limite (Muck e Pitt, 1993). A exposição por tempo prolongado pode ocasionar escurecimento da silagem pela reação de “Maillard” ocasionando perda de aminoácidos (lisina, arginina, etc.) e de valor nutritivo das fontes de proteína (Nunes et al., 2001).

Silagens com vedação atrasada podem apresentar maior teor de PB. Entretanto, devido a proteólise por atividade microbiana, esse aumento ocorre sob a forma de NNP, aumentando as concentrações de NH₃/NT e afetando o valor nutricional da silagem (Rotz e Muck, 1994).

2.8. Inoculante microbiano

A utilização de inoculante microbiano é uma ferramenta auxiliar no processo de ensilagem. Nesse processo, podem ser utilizadas cepas homofermentativas, heterofermentativas ou uma combinação entre elas (Zopollato et al., 2009). No Brasil, apenas 27,7% das propriedades utilizam algum aditivo para ensilar suas culturas e apenas 18% utilizam inoculantes microbianos (Bernardes e Rego, 2014).

As bactérias homofermentativas (*Lactobacillus plantarum*, *L. curvatus*, *L. acidophilus*, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus faecium*, *Pediococcus pentosaceus* e *P. acidilactici*) aumentam a taxa de fermentação e a produção de ácido lático, aceleram a queda do pH, diminuem a proteólise e estabilizam o processo fermentativo de forma mais

rápida. Já as bactérias heterofermentativas (*L. buchneri*, *L. brevis* e *Propionibacterium sp.*) utilizam ácido lático e glicose como substratos para produção de ácido acético e propiônico, atuando no controle de fungos sob baixo pH (Zopollato et al., 2009). Silagens de boa qualidade apresentam pH entre 3,8 a 4,2, essa faixa potencializa a ação do ácido acético que possui boas propriedades no controle de fungos e leveduras (McDonald et al., 1991).

Os inoculantes com cepas heterofermentativas têm maior probabilidade de aumentar a estabilidade aeróbia em comparação aos inoculantes com cepas homofermentativas em função do perfil fermentativo. Algumas cepas como *L. buchneri* são lentas na produção de ácido acético, levando 45 a 60 dias para melhorar a estabilidade aeróbia. Esse fator é limitante para sua utilização, uma vez que os produtores geralmente precisam abrir a silagem em períodos menores, não obtendo melhora na qualidade das silagens devido à utilização do inoculante (Silva et al., 2019).

Silagens de milho colhidas com 35,8% de MS e ensiladas com *Propionibacterium acidipropionici* apresentaram redução ($P < 0,05$) no número de leveduras e fungos 4,15 e 2,4 vezes menor comparado ao grupo controle respectivamente, com melhora na estabilidade aeróbia.

Quando ocorre a perda da estabilidade aeróbia, o valor nutricional do alimento pode ser comprometido pelo crescimento de micro-organismos, aumentando as frações fibrosas e diminuindo a digestibilidade dos nutrientes no alimento (Lima et al., 2017). Quando a temperatura aumenta por atividade de micro-organismos aeróbios, os valores nutritivos podem diminuir em até 16% antes dos bolores se mostrarem visíveis (Borreani et al., 2017). Tabaco et al. (2011) avaliaram o efeito da inoculação do *L. buchneri* e o tempo de exposição ao ar pós abertura do silo de milho por 0, 7 e 14 dias, o tratamento com inoculante após 14 dias de exposição ao ar diminuiu ($p < 0,001$) em 47,94% as concentrações de PB e a lignina em detergente ácido (LDA) ($p = 0,023$) 18,17% em relação ao grupo controle. O tempo de exposição ao ar influenciou todos os parâmetros, exceto extrato etéreo e hemiceluloses. A perda da estabilidade aeróbia do tratamento com inóculo ocorreu com 12 dias. Esse fato contribuiu efetivamente para a manutenção do valor nutricional da forragem na avaliação de 7 dias após abertura. Silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* ensiladas por 165 dias, não alteraram os teores de MS, MO, PB, CNF, EE, FDN, FDA e NDT (Salvo et al., 2013).

As digestibilidades da MS e da MO aumentaram ($p=0,0143$ e $p=0,0002$) nas silagens inoculadas. A melhora na digestibilidade da fibra ocorre possivelmente pela produção de ferulato-esterase pelo *L. buchneri* (Salvo et al., 2013). Coelho et al. (2018), avaliaram o efeito do inoculante microbiano contendo *P. acidipropionici* e *L. plantarum* em reensilagem de milho e não observaram efeito significativo do inóculo sobre a redução nos valores nutritivos. Nesse trabalho, os teores de carboidratos não fibrosos e digestibilidade reduziram e os teores de fibras aumentaram. Entretanto, todos foram correlacionados ao efeito da reensilagem e maior produção de efluente devido à compactação dupla.

3 REFERÊNCIAS

- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne [ABIEC]. 2019. Beef Report 2019. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/Sumario2019.aspx>. Acesso em: 05 de fev. 2020.
- Ashbell, G.; Weinberg, Z.G.; Hen, Y. e Filya, I. 2002. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 28:261–263.
- Backes, A.A.; Sanchez, L.M.B.; Gonçalves, M.B.F. 2001. Desempenho de novilhos santa gertrudis confinados submetidos a dietas com diferentes fontes proteicas e silagem de milho, com ou sem inoculante. *Revista Brasileira de Zootecnia* 30: 2121-2125.
- Basso, F. C.; Bernardes, T. F.; Roth, A. P. T. P.; Lodo, T. N.; Berchielli, T. T. e Reis, R. A. 2012. Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41:1789-1794.
- Bernardes, T.F. e Rêgo, A.C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science* 97:1852-1861.
- Borreani, G.; Tabacco, E.; Schmidt, R. J.; Holmes, B. J.; Muck, R. E. 2017. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science* 101:3952–3979.
- Brüning, D.; Gerlach, K.; Weiß, K. e Südekum, K. H. 2017. Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. *Grass and Forage Science* 73:53–66.
- Chen, Y. e Weinberg, Z. G. 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *Journal of Dairy Science* 97:406-410.
- Coelho, M. M.; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Keller, K. M.; Ottoni, D.; Michel, P. H. F. e Jayme, D. G. 2018. Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53:1045-1052.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento | ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA DE GRÃOS | v. 7 – Safra 2019/20, n.4 – Quarto levantamento, janeiro 2020, p.66-74, 2020.
- Daniel, J.L.P.; Zopollatto, M.; Nussio, L.G. 2011. A escolha do volumoso suplementar na dieta de ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40: 261-269.
- Dias-Filho, M. B. 2014. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 402: 36.
- Domingues, F.N.; Oliveira, M. D. S.; Siqueira, G. R.; Roth, A. P. T. P; Santos, J.; Mota, D. A. 2011. Estabilidade aeróbia, pH e dinâmica de desenvolvimento de microrganismos da cana-de-açúcar in natura hidrolisada com cal virgem. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40:715-719.

Dos 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. *Journal of Dairy Science* 101:1–8.

Driehuis, F.; Oude Elferink, W.H.; Van Wikselaar, P.G. 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculant with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science* 56: 330-343.

Elferink, S. J. W. H. O.; Krooneman, J.; Gottschal, J. C.; Faber, S. F. S. F.; Driehuis, F. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied Environmental Microbiology* 67: 125-132.

EMBRAPA. Anuário do leite 2019. Disponível em <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>. Acesso em 20 dezembro. 2019.

Gallo, A.; Giuberti, G.; Bruschi, S.; Fortunati, P.; Masoero. 2015. Use of principal factor analysis to generate a corn silage fermentative quality index to rank well- or poorly preserved forages. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96: 1686–1696.

Hu, W.; Schmidt, R. J.; McDonell, E. E.; Klingerman, C.M. e Kung Jr, L. 2009. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal of Dairy Science* 92:3907-3914.

Jobim, C. C.; Nussio, L. G.; Reis, R. A.; Schmidt, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada, *Revista Brasileira de Zootecnia* 36: 101-119.

Jobim, C.C.; Reis, R.A.; Rodrigues, L.R.A.; Iturrino, R. A. S. 1997. Presença de microrganismos na silagem de grãos úmidos de milho ensilado com diferentes proporções de sabugo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 32: 201-204.

Koc, F., Coskuntuna, L., Ozduven, M. L. 2009. The effects of temperature on the silage microbiology and aerobic stability of corn and vetch-grain silages. *Acta Agricultura e Scand Section* 59: 239-246.

Kung Jr, L., Sheperd, A. C., Smagala, A. M. 1998. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*. 81:1322-1330.

Lima, E. M.; Gonçalves, L. C.; Keller, K. M.; Rodrigues, J. A. S.; Santos, F. P. C.; Michel, P. H. F.; Raposo, V. S. e Jayme, D. G. 2017. Re-ensiling and its effects on chemical composition, in vitro digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure to air. *Canadian Journal of Animal Science* 97:250-257.

Machado, F.S.; Rodríguez, N.M.; Gonçalves, L.C. Rodrigues, J.A.S.; Ribas, M.N.; Pôssas, F.P.; Júnior, R.G.; Jayme, D.G.; Pereira, L.G.R. 2011. Consumo e digestibilidade

aparente de silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 63:1470-1478.

Mari, L. J.; Schmidt, R. J.; Nussio, L. G.; Hallada, C. M. e Kung Jr, L. 2009. Short communication: An evaluation of the effectiveness of *Lactobacillus buchneri* 40788 to alter fermentation and improve the aerobic stability of corn silage in farm silos. Journal of Dairy Science 92:1174-1176.

MCallister, T. A. e Hristov, A. N. 2000. The fundamentals of making good quality silage. Adv. Dairy Technol 12:381-399.

McDonald, P.; Henderson, A. R. e Heron, S. 1991. The biochemistry of silage. 2th ed. Marlow, England. Chalcombe Publications.

Michel, P. H. F.; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Keller, K. M.; Raposo, V. S.; Lima, E. M.; Santos, F. P. C. e Jayme, D. G. 2016. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. Grass and Forage Science 72:432-440.

Muck, R. E. Silage microbiology and its control through additives. 2010. Revista Brasileira de Zootecnia 39:183-191.

Muck, R. E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. Journal of Dairy Science 71: 2992-3002.

Muck, R. E., And J. T. Dickerson. 1988. Storage temperature effects on proteolysis in alfalfa silage. American Society of Agricultural and Biological Engineers 31:1005-1009.

Muck, R.E.; Pitt, R.E. 1993. Ensiling and its effect on crop quality silage. In: Silage production from seed to animal. Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service 67: 57-66.

Neto, A. S.; Nussio, L. G.; Zopollatto, M. Junges, D.; Bispo, A.W. 2013. Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L. plantarum*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 48:528-535.

Nunes, C.S; Baptista, A.O. 2001. Implicações da reacção de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 96: 538. 53-59.

Nussio, L.G.; Campos, F.P.; Dias, F.N. 2001. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. Anais De Simpósio Sobre Produção E Utilização De Forragens Conservada. 127.

Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F. e Spoelstra, S. F. 2003. Microbiology of ensiling. 31-93.

Paziani, S.F.; Duarte. A. D.; Nussio, L. G.; Gallo, P. B.; Bittar, C. M. M.; Zopollatto, M.; Reco, P. C. 2009. Características agronômicas e bromatológicas de híbridos de milho para produção de silagem. Revista Brasileira de Zootecnia 38:411-417.

- Pitt, R. E.; Muck, R.E.; Pickering, N. B. 1991. A model of aerobic fungal growth in silage. *Grass and Forage Science* 46:301-312.
- Rabelo, C.G.; Souza, L.H.; Oliveira, F.G. 2017. Análise dos custos de produção de milho: estudo de caso. *Caderno de Ciências Agrárias* 9:08-15.
- Ranjit, N. K.; Kung, L. Jr.; Robinson, J. M.; Kreikemeier, K. K. 1999. Moderate to high levels of *Lactobacillus buchneri* markedly improves the aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science* 82:125.
- Robinson, P. H.; Swanepoel, N. 2016. Impacts of a polyethylene silage pile underlay plastic with or without enhanced oxygen barrier (EOB) characteristics on preservation of whole crop maize silage, as well as a short investigation of peripheral deterioration on exposed silage faces. *Animal Feed Science and Technology* 215:13–24.
- Rocha, K. D.; Pereira, O. G.; Filho, S. C. V.; Oliveira, A. P.; Pacheco, L. B. B.; Chizzotti, F. H. M. 2006. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zeamays* L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:389-395.
- Rotz, C. A. e Muck, R. E. 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. p.828-868. In: *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: University of Nebraska.
- Salvo, P.A.R.; Basso, C.H.S.; Oliveira, A.A.; Sader, A.P.; Casagrande, D.R.; Berchielli, T.T.; Reis, R.A. 2013. Características De Silagens De Milho Inoculadas Com *Lactobacillus Buchneri* E *L. Plantarum*. *Revista Archivos de Zootecnia* 62:379-390.
- Silva, L. D.; Pereira, O. G.; Roseira, J. P. S.; Agarussi, M. C. N.; Silva, V. P. e Silva, T. C. 2019. Fermentative profile of maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista de Ciências Agrárias* 62:1-5.
- Tabacco, E.; Righi, F.; Quarantelli, A. e Borreani, G. 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Animal Science* 94:1409–1419.
- Tangni, E. K.; Pussemier, L. e Van Hove, F. 2013. Mycotoxin Contaminating Maize and Grass Silages for Dairy Cattle Feeding: Current State and Challenges. *Journal of Animal Science* 3:492-511.
- Velho, J. P.; Mühlbach, P. R. F.; Genro, T. C. M.; Velho, I. M. P. H. e Nörnberg, J. L. 2006. Alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem”. *Ciência Rural* 36:916-923.
- Zopollatto, M.; Daniel, J. L. P. e Nussio, L. G. 2009. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:170-189.
- Weinberg, Z.G.; Muck, R.E. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *Microbiol Reviews* 19: 53-68.

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

Woolford, M. K. 1990. The detrimental effect of air on silage. *Journal of Applied Microbiology* 68:101–116.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO

Exposição ao ar e uso de inoculantes microbianos na qualidade da silagem de milho

RESUMO

O comércio de silagem é crescente no Brasil, por diferentes razões as fazendas realizam a compra de volumoso e ensilam em sua propriedade. A decisão entre comprar o material ensilado ou a planta verde ainda é um impasse. Ao comprar a silagem os riscos estão associados à perda de estabilidade aeróbia. Ao comprar a planta verde os riscos estão nos processos de respiração. Os inoculantes microbianos podem ser utilizados para mitigar essas perdas. Objetivou-se determinar o efeito da exposição ao ar antes da ensilagem e do uso de inoculante com bactérias heterofermentativas na qualidade da silagem de milho. O material verde picado foi dividido em 4 frações. Dessas, duas frações não foram expostas ao ar e, em uma delas, foi aplicado inoculante bacteriano com cepas heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri* + *Propionobacterium acidipropionici*) na concentração de 2g por tonelada de silagem. As outras frações restantes foram expostas ao ar por 12h e ensiladas em seguida com e sem inoculante. Foram avaliados estabilidade aeróbia, composição química, parâmetros fermentativos, digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS), contagem de micro-organismos e perdas. A composição química não foi influenciada pela utilização do inoculante, enquanto a exposição ao ar aumentou ($P<0,05$) as concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) e diminuiu ($P<0,05$) a de carboidrato não fibroso (CNF). A DIVMS e a estabilidade aeróbia não diferiram entre os tratamentos. A exposição ao ar, reduziu o valor nutritivo e não há evidências benéficas do uso de inoculantes para reduzir a perda no valor nutritivo e manter estabilidade aeróbia de silagens expostas ao ar.

Palavras-chave: deterioração aeróbia, *Lactobacillus buchneri*, *Propionobacterium acidipropionici*, respiração.

INTRODUÇÃO

A silagem de milho é o volumoso mais produzido no Brasil e sua comercialização está em ascensão. Um dos fatores relacionados a esse aumento é a compra estratégica de silagem com o objetivo de mitigar os riscos e os altos custos ocasionados pela ineficiência produtiva das lavouras nas fazendas. Essa ineficiência pode ser ocasionada por desconhecimento da técnica produtiva, intempéries climáticas, falta de planejamento e de mão de obra, área insuficiente para produção de volumoso na propriedade e falta de maquinário especializado (Bernardes e Rêgo, 2014; Chen e Weinberg, 2014; Michel et al., 2016; Lima et al., 2017; Coelho et al., 2018; Dos Anjos et al., 2018).

A decisão entre comprar o material ensilado ou a planta verde ainda é um impasse. Quando há a compra da silagem os riscos estão relacionados à perda de estabilidade do material ensilado e à perda no valor nutricional (Lima et al., 2017). Entretanto, a compra da planta verde pode gerar perdas devido ao aumento da respiração. Durante essa fase, ocorre consumo de carboidratos solúveis, com piora nos processos fermentativos, aumento das frações fibrosas e diminuição do valor nutricional (Bruning et al., 2017). Além disso, pode ser maior a chance de contaminação por leveduras e a estabilidade aeróbia do material pode diminuir.

Os inoculantes com cepas heterofermentativas podem aumentar a estabilidade aeróbia das silagens em função da produção de ácido acético e ácido propiônico que controla o crescimento de fungos e leveduras (McDonald et al., 1991; Tabacco et al., 2011). Essa melhoria proposta com a utilização dos inoculantes tem influência sobre as perdas e o valor nutricional das silagens. Nesse contexto, objetivou-se determinar o efeito da exposição ao ar e do uso de inoculante com bactérias heterofermentativas na qualidade da silagem de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Plantio, colheita e ensilagem

O híbrido de milho BM 3063 PRO2 foi plantado em novembro de 2018, na Fazenda Experimental Professor Hélio Barbosa UFMG, localizada em Igarapé, Minas Gerais, Brasil (20° 4'24.79"S, 44°21'18.90"O, altitude 849 m). O espaçamento de linhas

utilizado foi de 70 cm. Para adubação de plantio, foram utilizados 350 kg/ha de 04-30-10 (NPK) + 35 kg/ha de ureia (48%N). Posteriormente, foram aplicados 400 kg/ha de nitrato + 22 kg/ha de FTE (microminerais) + 86 kg/ha de cloreto de potássio em cobertura.

O material foi colhido após atingir 33% de matéria seca, picado a aproximadamente 1 - 2,5 cm com ensiladeira convencional (JF C120 AT; JF Máquina de agricultura, Itapira, Brasil) e dividida em quatro frações. As primeiras duas frações não foram expostas ao ar e, em uma delas, foi aplicado inoculante bacteriano com cepas heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri* + *Propionobacterium acidipropionici*) na concentração de 2g por tonelada de silagem, conforme recomendação do fabricante. As outras frações restantes foram expostas ao ar por 12h em um galpão coberto à temperatura ambiente e ensiladas em seguida com e sem inoculante. O material foi ensilado em baldes de 20 L equipados com válvulas e um saco de algodão, contendo 2 kg de areia seca em estufa cobrindo o fundo do balde para permitir a medição de efluentes (Pedroso et al., 2008).

2. Composição bromatológica e digestibilidade in vitro

As amostras de silagens foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55oC por 72 horas e moídas a 1mm em moinhos (Thomas Modelo 4 Wiley Mill, Thomas

Scientific, Swedesboro, NJ). O conteúdo de matéria seca foi determinado em estufa a 105oC (AOAC Internacional 1990; método 934.01). O conteúdo de proteína bruta (PB) foi determinado pelo método Kjeldahl (AOAC 1990; método 954.01), multiplicando o valor de N x 6.25. A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e a fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) foram determinadas pelo método sequencial, de acordo com Van Soest et al. (1991). O teor de cinzas foi determinado pela queima total de matéria orgânica em mufla a 600 oC por 4 h, (AOAC International, 1990 método 942.05). O teor de matéria orgânica (MO) foi calculado pela diferença entre a MS e o conteúdo de cinzas. O extrato etéreo (EE) foi obtido pelo extrator Soxhlet (AOAC International 1990, método 920.39).

A porcentagem de CNF foi calculada pela equação proposta pelo NRC (2001): $100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%Cinzas)$. A digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) foi realizada segundo procedimento descrito por Tilley e Terry (1963) e

adaptado por Holden (1999) com a utilização do simulador de rúmen Daisy II (Ankom Technology, Macedon, NY, EUA).

3. Análises das perdas

Antes da confecção das silagens, foi mensurado o peso dos silos experimentais vazios com tampa e do saco de areia seca. Os silos foram pesados novamente após preenchidos com a forragem, compactados, com as tampas e vedados com fita adesiva.

No momento da desensilagem, os silos foram pesados cheios para determinação da perda de gases conforme a fórmula:

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

Em que:

G = Perdas por gases em (% MS);

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

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

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

PCab = Peso do balde cheio na abertura (kg); MSab = Teor de MS da forragem na abertura (%).

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

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

Em que:

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

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

MVi = Quantidade de massa verde de forragem ensilada (kg).

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

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

Em que:

PMS = Perda total de MS (%);

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

Pen = Peso do conjunto (balde + tampa + areia seca + saco) na ensilagem (kg); MSen = Teor de MS da forragem na ensilagem (%);

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

Pab = Peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura (kg); MSab = Teor de MS da forragem na abertura (%).

4. Análise de parâmetros fermentativos

O suco da silagem foi extraído com uma prensa hidráulica para determinar o pH e o N-NH₃/NT. O pH foi medido utilizando-se um medidor de pH (modelo HI 2210). Para determinação do N-NH₃/NT foi utilizado um equipamento destilador de Kjeldahl (AOAC, 2012), utilizando-se óxido de magnésio e cloreto de cálcio como meio neutralizante para a evaporação de amônia, solução ácido bórico como solução receptora e ácido clorídrico 0,1 N como titulante.

5. Avaliação da estabilidade aeróbia das silagens

Para avaliação da estabilidade aeróbia, o material foi exposto ao ar em ambiente climatizado com temperatura de 25°C e acondicionado em baldes plásticos cobertos com papel alumínio permitindo a entrada do ar, para evitar as contaminações ambientais. A temperatura das silagens foi registrada nos tempos de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20,

22, 24, 30, 36, 42, 54, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188 e 200 horas, utilizando-se um termômetro de mercúrio (Termômetro analógico para estufas; MODELO: TAE-110) inserido a 10 cm no centro da massa de silagem.

A estabilidade aeróbia das silagens foi determinada pelo número de horas gasto para a silagem mostrar aumento de 2°C acima da temperatura ambiente (Hu et al., 2009).

6. Contagem de fungos, leveduras e bactérias

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

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

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

7. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi um arranjo fatorial 2x2 em blocos ao acaso com cinco repetições. Utilizando-se o seguinte modelo estatístico:

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

Em que:

Y_{ijk} = Valor referente à observação no fator exposição ao ar i com o fator inoculante j no bloco k ;

μ = Média geral;

R_i = Efeito do nível i da exposição ao ar (0 ou 12 horas);

I_j = Efeito do nível j do fator inoculante (com ou sem aplicação); N_{ij} = Efeito da interação exposição ao ar e inoculante;

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

e_{ijk} = Erro aleatório associado à observação.

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

RESULTADOS

A temperatura da massa ensilada nos grupos não expostos foi de 30°C. Já a silagem nos grupos expostos ao ar chegou a 43°C. (Tabela 1). Houve interação ($P < 0,05$) da exposição ao ar e do uso de inoculante microbiano sobre a perda por gases. A maior perda (25,9%) foi no grupo sem inoculante. Já para as perdas por efluentes, não houve efeito da interação. O tempo de exposição diminuiu ($P < 0,01$) a perda de efluente em 40,27%. As perdas totais foram impactadas apenas pela interação, sendo 21% maior ($P < 0,05$) em silagens não expostas ao ar e sem inoculante. Para os tratamentos expostos ao ar, não houve diferenças (Tabela 2).

A interação entre exposição ao ar e inoculante microbiano aumentou ($P < 0,05$) o teor de MS (4,35%) no grupo inoculado e não exposto ao ar. No grupo exposto ao ar, não houve efeito da interação e as variáveis não apresentaram efeito isolado. A interação aumentou o pH ($P < 0,01$) em silagens inoculadas expostas ao ar. No tratamento não exposto ao ar e inoculadas o pH foi menor ($P < 0,01$). Essas variáveis não atuaram de forma isolada na concentração de N- NH_3/NT . A interação aumentou o teor de N- NH_3/NT ($P < 0,05$) nas silagens não expostas ao ar sem inoculação (Tabela 3).

A composição química não foi influenciada pela utilização do inoculante, enquanto a exposição ao ar por doze horas aumentou as concentrações de PB ($P < 0,01$) e FDN ($P < 0,05$) e diminuiu ($P < 0,05$) a de CNF (Tabela 4). A DIVMS não diferiu entre os tratamentos.

Não houve diferença na estabilidade aeróbia entre os tratamentos. A contagem de fungos foi maior ($P < 0,05$) no tratamento exposto ao ar. A contagem de bactérias aeróbias foi influenciada pela interação exposição ao ar e utilização de inoculante microbiano. A contagem foi 1,12 vezes maior ($P < 0,05$) no grupo inoculado com exposição ao ar. A contagem de leveduras não diferiu entre os tratamentos. Após a perda de estabilidade aeróbia, a contagem de fungos e de bactérias aeróbias não diferiram entre os tratamentos e para as leveduras houve maior ($P < 0,05$) contagem no grupo exposto ao ar por 12 h (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Plantas após o corte continuam metabolicamente ativas, devido ao processo de respiração. Este processo pode ser identificado pelo aumento de temperatura da massa ensilada (McAllister e Hristov, 2000). Neste estudo a temperatura dos materiais expostos ao ar alcançou 43°C. O aumento de temperatura ocorre a partir da oxidação de carboidratos solúveis produzindo CO_2 , H_2O e energia (McDonald et al., 1991).

Silagens inoculadas com cepas heterofermentativas podem apresentar maior perda por gases em consequência da produção de CO_2 durante a conversão do ácido lático em ácido acético e 1,2-propanodiol (Elferink et al., 2001). Entretanto a perda por gases neste

experimento foi menor em silagens inoculadas. Neto et al. (2013) também observaram menor ($P=0,08$) perda por gases (17,53 vs. 12,46%) em silagens inoculadas.

Durante a aeração, o material exposto pode perder umidade e carrear menor quantidade de carboidratos solúveis. Isso pode justificar a menor perda por efluente. Essas maiores perdas influíram nas perdas totais que foram 21,6% maiores na silagem exposta ao ar.

Silagens inoculadas com cepas heterofermentativas podem apresentar maior perda de MS em função da fermentação dos carboidratos solúveis (McDonald et al., 1991). Entretanto, neste estudo a utilização de inoculante aumentou o teor de MS. Possivelmente a rota heterofermentativa não foi predominante e isso pode ser evidenciado por meio do pH mais ácido nas silagens inoculadas. O teor de MS também não alterou em outros estudos utilizando o *L. buchneri* (Hu et al., 2009; Mari et al., 2009; Tabacco et al., 2011; Neto et al., 2013; Silva et al., 2019).

Silagens de boa qualidade apresentam pH entre 3,6 a 4,2 (McDonald et al., 1991). A exposição ao ar pode aumentar o pH por dois motivos. O primeiro é que silagens expostas ao ar podem apresentar maior pH devido a menor quantidade de substratos solúveis perdidos pelo processo de respiração (Ashbell et al., 2002). O segundo seria pela ação das bactérias heterofermentativas (*L. buchneri* e *Propionobacterium acidipropionici*) que utilizam ácido láctico e a glicose como substratos para produção de ácido acético e propiônico aumentando o pH (Zopollato et al., 2009). Silagens inoculadas com *L. buchneri*, apresentaram maior ($p<0,01$) pH em relação as do tratamento controle, mas não foi suficiente para elevar o pH acima dos valores ideais (Hu et al., 2009; Tabacco et al., 2011).

O grupo inoculado e não exposto ao ar apresentou menor pH em comparação ao grupo controle. Segundo McDonald et al. (1991), existem duas vias de fermentação por *L. buchneri*: a primeira converte glicose e frutose em ácido láctico, ácido acético, manitol, CO₂ e H₂O; a segunda é capaz de converter o ácido láctico em ácido acético, 1,2 propanodiol e pequenas quantidades de etanol (Elferink et al., 2001). Possivelmente na silagem do tratamento inoculado e não exposto a primeira via sobressaiu à segunda.

Comparando-se os tratamentos não inoculados, o grupo exposto ao ar apresentou menor pH. Entretanto os valores encontrados estão na faixa ideal para uma silagem de boa qualidade.

Silagens com vedação atrasada podem apresentar maior teor de PB por efeito de concentração causada pela perda dos carboidratos solúveis. Açúcares residuais e ácidos orgânicos são fermentados em ácido butírico e, conseqüentemente, o pH é aumentado e os aminoácidos convertidos em amina e NH₃. Devido à proteólise por atividade microbiana, esse aumento pode ocorrer sob a forma de NNP, aumentando as concentrações de NH₃/NT e afetando o valor nutricional da silagem (Rotz e Muck, 1994). Os resultados obtidos neste trabalho demonstram aumento nos teores de PB nos tratamentos expostos ao ar. Entretanto o NH₃/NT só apresentou aumento no grupo exposto ao ar sem inoculante. O grupo exposto ao ar com inoculante apresentou menor NH₃/NT. Bruning et al. (2017) também observaram maior teor de PB em silagens expostas por 2 e 4 dias (P=0,01) e as concentrações de N- NH₃/NT menores (P<0,01) após exposição por 2 e 4 dias. Segundo os autores, o efeito pode ser justificado por fermentação e proteólise reduzida. Isso implicaria que apenas a desmólise microbiana ocorreu na silagem. Ressalta-se que, apesar das diferenças significativas demonstradas, todos os valores descritos se adequam aos limites críticos (100 g/kg1) (McDonald et al., 1991).

Os resultados obtidos demonstram que a exposição ao ar aumentou o teor de FDN e diminuiu CNF. Segundo Rotz e Muck (1994), as perdas de carboidratos solúveis pelo processo de respiração, podem aumentar de FDN na MS. Essas perdas são maiores quanto maior o tempo de exposição. Velho et al. (2006) e Bruning et al. (2017), também observaram aumento (P<0,05) no teor de FDN e diminuição (P<0,05) na concentração de CNF quando o material foi exposto ao ar por 12h.

Compostos solúveis apresentam alta digestibilidade enquanto frações fibrosas apresentam de média a baixa. Os valores máximos de DIVMS da silagem de milho são próximos aos mínimos teores de FDN (Silva et al., 2005). Portanto, o aumento das frações fibrosas pode influenciar a digestibilidade do alimento. Contudo, apesar dos resultados demonstrarem aumento nas frações fibrosas e redução nas frações solúveis, não foi observada diferença significativa na DIVMS. A alteração pode não ter sido observada

devido a qualidade do material ensilado. Ainda que exposto ao ar, o teor de FDN não foi alto. Fontanelli et al. (2002) descreveram como valores médios encontrados em 246 silagens de milho, avaliadas em diferentes regiões do Rio Grande do Sul, 60,7% (49,41-72,35%) de FDN. A menor amplitude (49,41%) descrita por Fontanelli et al. (2002) é semelhante ao maior valor encontrado neste estudo (50,18%).

Silos com vedação atrasada podem apresentar menor estabilidade aeróbia. Durante a exposição prévia ao ar, a ensilagem pode aumentar a população de leveduras. As quais podem permanecer inativas durante a fase estável e podem ser reativadas quando o silo entra em contato novamente com o ar, diminuindo a estabilidade da silagem após a exposição ao ar (Ashbell et al., 2002; Pahlow et al., 2003). Bruning et al. (2017) avaliaram a estabilidade aeróbia em silagens de milho com atraso na vedação por 48 e 96 horas. O atraso na vedação de 48 horas diminuiu ($p=0,06$) a estabilidade em 12 horas e o atraso de 96 horas diminuiu ($p=0,01$) 28,5 horas. Entretanto, neste estudo não foi observada diferença na estabilidade aeróbia em nenhum dos tratamentos.

Também foi levantada a hipótese de o inoculante microbiano aumentar a estabilidade aeróbia, entretanto isso não foi observado. Em média as silagens permaneceram estáveis por 227 horas. Esse resultado foi observado possivelmente pela boa conservação do material ensilado. Silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* apresentaram maior ($p<0,01$) estabilidade aeróbia (185,5 horas) em relação ao grupo controle (50,5 horas), aumento de 3,7 vezes. (Hu et al., 2009). Corroborando com o estudo anterior, Mari et al. (2009) avaliaram a estabilidade aeróbia em silos coletados a campo inoculados com *L. buchneri* e aumentaram ($p=0,02$) 1,65 vezes a estabilidade aeróbia, esses silos permaneceram estáveis por 76 horas.

O presente estudo demonstrou melhor estabilidade aeróbia que o apresentado por Mari et al. (2009) possivelmente pela menor contagem inicial de leveduras (5,04 vs. 5,15) e menor variação média destas (0,24 vs. 0,34). Foram avaliadas silagem de milho inoculada com *L. buchneri*, *L. plantarum* e um grupo controle durante 0, 7 e 14 dias de exposição ao ar, a inoculação com *L. buchneri* manteve a estabilidade aeróbia por 12 dias (Tabacco et al., 2011). Basso et al. (2012) avaliaram a estabilidade aeróbia em silagem de milho inoculada com diferentes cepas de *L. buchneri* comparada ao grupo controle. Silagens com *L. buchneri* aumentaram ($P<0,05$) a estabilidade aeróbia em 140 horas (47

e 187 horas, respectivamente). Possivelmente as variações na estabilidade aeróbia supracitadas estão associadas a qualidade do material ensilado e a maior produção de ácido acético atuando sobre o crescimento de leveduras (Chen e Weinberg, 2014; Lima et al., 2017).

As leveduras e as bactérias produtoras de ácido acético são as principais causadoras da deterioração das silagens, pois metabolizam ácido láctico e aumentam o pH, ocasionando o crescimento de fungos e bactérias aeróbias (Tangni et al., 2013; Wilkinson e Davies, 2012). A contagem de leveduras após a abertura dos silos não diferiu entre as silagens dos tratamentos. Era esperada maior contagem de leveduras nas silagens expostas ao ar devido a maior tempo de exposição e possivelmente maior chance de contaminação. Entretanto, os valores encontrados são inferiores aos descritos por Bruning et al. (2017). Mari et al. (2009) também não observaram alteração na contagem de leveduras em silagens colhidas a campo. A perda de estabilidade aeróbia ocorre quando a contagem de leveduras é superior à $9 \log_{10} \text{ufc/g}$ (Pitt et al., 1991). Todas as contagens foram inferiores a esse valor, o que possivelmente proporcionou boa estabilidade aeróbia ao material.

O efeito da exposição ao ar, dobrou a contagem de fungos. Porém, os valores são considerados baixos quando comparados aos limites para perda de estabilidade aeróbia $8 \log_{10} \text{ufc/g}$ (Pitt et al., 1991). Sendo assim não houve comprometimento do material ensilado.

As contagens de fungos e leveduras iniciais, MS, pH, ácido orgânicos e a temperatura ambiente explicam 82% de toda variação na estabilidade aeróbia (Pitt et al., 1991). Apesar da contagem de bactérias aeróbias diferir entre os tratamentos, a baixa contagem de fungos e leveduras, não impactou na estabilidade aeróbia.

Após o término da avaliação da estabilidade aeróbia, bactérias aeróbias e fungos não diferiram entre os tratamentos. Já as leveduras aumentaram com a exposição ao ar. Porém, os valores permaneceram abaixo dos descritos por Pitt et al. (1991) como críticos para perda de estabilidade aeróbia, o que proporcionou boa estabilidade ao material.

CONCLUSÃO

A exposição ao ar por 12h antes da ensilagem reduziu o valor nutritivo da silagem por meio do aumento das frações fibrosas e diminuição dos carboidratos solúveis.

O uso de inoculante com associação de *Lactobacillus buchneri* + *Propionobacterium acidipropionici* não foi efetivo em reduzir a perda no valor nutritivo e na estabilidade aeróbia do material ensilado.

REFERÊNCIAS

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 2012. Official methods of analysis. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, USA.
- Ashbell, G.; Weinberg, Z.G.; Hen, Y. e Filya, I. 2002. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 28:261–263.
- Basso, F. C.; Bernardes, T. F.; Roth, A. P. T. P.; Lodo, T. N.; Berchielli, T. T. e Reis, R. A. 2012. Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira e Zootecnia* 41:1789-1794.
- Bernardes, T.F. e Rêgo, A.C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science* 97:1852-1861.
- Brüning, D.; Gerlach, K.; Weiß, K. e Südekum, K. H. 2017. Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. *Grass and Forage Science* 73:53–66.
- Chen, Y. e Weinberg, Z. G. 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *Journal of Dairy Science* 97:406-410.
- Coelho, M. M.; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Keller, K. M.; Ottoni, D.; Michel, P. H. F. e Jayme, D. G. 2018. Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53:1045-1052.
- Dos Anjos, G. V. S.; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Keller, K. M.; Coelho, M. M.; Michel, P. H. F.; Ottoni, D. e Jayme, D.G. 2018. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. *Journal of Dairy Science* 101:1–8.
- Elferink, S. J. W. H. O.; Krooneman, J.; Gottschal, J. C.; Faber, S. F. S. F. e Driehuis. F. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied Environmental Microbiology* 67: 125-132.
- Fontaneli, R. S.; Durr, J. W.; Basso, S. M. S.; Appelt, J. V. e Hauber, F. A. 2002. Avaliação da qualidade de silagens de milho através da espectrometria de reflectância no infravermelho proximal (NIRS). Viçosa: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia 37:748.
- Holden, L. A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. 1999. *Journal of Animal Science* 82:1791–1794.
- Hu, W.; Schmidt, R. J.; McDonell, E. E.; Klingerman, C.M. e Kung Jr, L. 2009. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal of Dairy Science* 92:3907-3914.

- Lima, E. M.; Gonçalves, L. C.; Keller, K. M.; Rodrigues, J. A. S.; Santos, F. P. C.; Michel, P. H. F.; Raposo, V. S. e Jayme, D. G. 2017. Re-ensiling and its effects on chemical composition, in vitro digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure to air. *Canadian Journal of Animal Science* 97:250-257.
- Mari, L. J.; Schmidt, R. J.; Nussio, L. G.; Hallada, C. M. e Kung Jr, L. 2009. Short communication: An evaluation of the effectiveness of *Lactobacillus buchneri* 40788 to alter fermentation and improve the aerobic stability of corn silage in farm silos. *Journal of Dairy Science* 92:1174-1176.
- McCallister, T. A. e Hristov, A. N. 2000. The fundamentals of making good quality silage. *Advanced Dairy Technol* 12:381-399.
- McDonald, P.; Henderson, A. R. e Heron, S. 1991. *The biochemistry of silage*. 2th ed. Marlow, England. Chalcombe Publications.
- Michel, P. H. F.; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Keller, K. M.; Raposo, V. S.; Lima, E. M.; Santos, F. P. C. e Jayme, D. G. 2016. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. *Grass and Forage Science* 72:432-440.
- Neto, A. S.; Nussio, L. G.; Zopollatto, M. Junges, D. e Bispo, A. W. 2013. Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L. plantarum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48:528-535.
- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F. e Spoelstra, S. F. 2003. Microbiology of ensiling. p.31-93. In: *Silage Science and Technology*. Madison: ASA.
- Pedroso, A. F.; Nussio, L. G.; Loures, D. R. S.; Paziani, S. F.; Ribeiro, J. L.; Mari, L. J.; Zopollatto, M.; Schmidt, P.; Mattos, W.R.S. e Horii, J. 2008. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical and bacterial additives. *Scientia Agricola* 65:589- 594.
- Pitt, J. I., e A. D. Hocking. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. 3rd ed. Springer, New York, NY.
- Pitt, R. E.; Muck, R.E. e Pickering, N. B. 1991. A model of aerobic fungal growth in silage. *Grass and Forage Science* 46:301-312.
- Rotz, C. A. e Muck, R. E. 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. p.828-868. In: *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: University of Nebraska.
- Silva, A. V.; Pereira, O. G.; Garcia, R.; Filho, S. C. V.; Cecon, P. R.; Ferreira, C. L. L. F. 2005. Composição Bromatológica e Digestibilidade in Vitro da Matéria Seca de Silagens de Milho e Sorgo Tratadas com Inoculantes Microbianos. *Revista Brasileira e Zootecnia* 6:1881-1890.
- Silva, L. D.; Pereira, O. G.; Roseira, J. P. S.; Agarussi, M. C. N.; Silva, V. P. e Silva, T. C. 2019. Fermentative profile of maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista de Ciências Agrárias* 62:1-5.

Tabacco, E.; Righi, F.; Quarantelli, A. e Borreani, G. 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Animal Science* 94:1409–1419.

Tangni, E. K.; Pussemier, L. e Van Hove, F. 2013. Mycotoxin Contaminating Maize and Grass Silages for Dairy Cattle Feeding: Current State and Challenges. *Journal of Animal Science* 3:492-511.

Tilley, J. M. A. e Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society* 18:104-111.

Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. e Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74:3583-3597.

Velho, J. P.; Mühlbach, P. R. F.; Genro, T. C. M.; Velho, I. M. P. H. e Nörnberg, J. L. 2006. Alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem”. *Ciência Rural* 36:916-923.

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

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

TABELAS

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

Variável	Tratamentos			
	Controle		LB + PA	
	SIL	E	SIL	E
Temperatura (°C)	30	43	30	43

LB, *Lactobacillus buchneri*; PA, *Propionobacterium acidipropionici*; SIL, silagem; E, exposição ao ar.

Tabela 2: Perdas por gases, por efluentes e perdas totais de matéria seca de silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

Variável	Tratamentos					Valor de p		
	Controle		LB + PA		EPM	I	E	I x E
	SIL	EXP	SIL	EXP				
Gases (%)	17,35	13,94	12,85	15,45	0,79	NS	NS	*
Efluentes (kgTon-1)	35,32	22,97	35,75	19,48	1,45	NS	**	NS
Totais (%)	20,32	15,94	15,99	17,14	0,80	NS	NS	*

LB, *Lactobacillus buchneri*; PA, *Propionobacterium acidipropionici*; SIL, silagem; E, exposição ao ar; Kg Ton-1 de massa verde ensilada; EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; E, efeito da exposição; I x E, efeito de interação; *, p<0,05%; **, p<0,01%; NS, não significativo.

Tabela 3: Parâmetros de qualidade da fermentação de silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

Variável (g kg ⁻¹ MS)	Tratamentos					Valor de p		
	Controle		LB + PA		EPM	I	E	I x E
	SIL	EXP	SIL	EXP				
MS	277,9	286,8	290	284,5	0,24	NS	NS	**
pH	3,52	3,49	3,43	3,87	0,02	**	**	**
N- NH ₃ /NT/NT	58,66	48,56	51,12	55,6	0,20	NS	NS	*

LB, *Lactobacillus buchneri*; PA, *Propionobacterium acidipropionici*; SIL, silagem; E, exposição ao ar; Kg Ton-1 de massa verde ensilada; EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; E, efeito da exposição; I x E, efeito de interação; *, p<0,05%; **, p<0,01%; NS, não significativo.

Tabela 4: Composição bromatológica de silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

Variável (g kg ⁻¹ MS)	Tratamentos				EPM	Valor de p		
	Controle		LB + PA			I	E	I x E
	SIL	EXP	SIL	EXP				
Cinzas	26,64	29,90	23,06	28,04	0,26	NS	NS	NS
PB	85,0	89,1	85,2	88,8	0,09	NS	**	NS
MO	251,3	256,9	266,9	256,5	0,38	NS	NS	NS
EE	35,5	35,3	38,7	27,8	0,35	NS	NS	NS
FDN	452,8	478,5	448,1	501,8	1,06	NS	*	NS
FDA	231,2	243,3	237,5	227,8	0,83	NS	NS	NS
CNF	400,1	344,0	415,9	366,1	0,94	NS	**	NS
DIVMS	615,8	613,1	619,0	612,6	1,61	NS	NS	NS

LB, *Lactobacillus buchneri*; PA, *Propionobacterium acidipropionici*; SIL, silagem; E, exposição ao ar; MS, matéria seca; PB, proteína bruta; EE, extrato etéreo; FDN, fibra em detergente neutro; FDA, fibra em detergente ácido; DIVMS, digestibilidade in vitro da matéria seca; EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; E, efeito da exposição; I x E, efeito de interação; *, p<0,05%; **, p<0,01%; NS, não significativo.

Tabela 5: Estabilidade aeróbia (h) e contagem de micro-organismos (log₁₀ ufc/g) em silagens de milho expostas ao ar e tratadas com inoculantes

Variável (g kg ⁻¹ MS)	Tratamentos				EPM	Valor de p		
	Controle		LB + PA			I	E	I x E
	SIL	E	SIL	E				
EA	240	230,6	216,2	220,8	15,94	NS	NS	NS
C mic. abertura do silo								
Bactéria Aeróbia	5,63	5,63	5,46	6,32	0,17	NS	*	*
Levedura	5,14	4,90	4,88	5,22	0,24	NS	NS	NS
Fungo	2,94	3,81	0,60	3,25	0,72	NS	*	NS
C mic. perda estabilidade								
Bactéria Aeróbia	5,70	5,55	5,22	6,64	0,47	NS	NS	NS
Levedura	5,73	5,91	5,50	6,42	0,24	NS	*	NS
Fungo	4,84	6,10	5,34	5,55	0,66	NS	NS	NS

LB, *Lactobacillus buchneri*; PA, *Propionobacterium acidipropionici*; SIL, silagem; C mic., Contagem microbiana; E, exposição ao ar; g Kg⁻¹ de massa verde ensilada; EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; E, efeito da exposição; I x E, efeito de interação; *, p<0,05%; **, p<0,01%; NS, não significativo.