

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

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* E QUALIDADE DAS  
SILAGENS DE MILHO REENSILADAS APÓS DIFERENTES TEMPOS DE  
EXPOSIÇÃO AO AR**

**EDUARDO MOURA DE LIMA**

**BELO HORIZONTE**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA – UFMG**  
**2015**

**Eduardo Moura de Lima**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* E QUALIDADE DAS  
SILAGENS DE MILHO REENSILADAS APÓS DIFERENTES TEMPOS DE  
EXPOSIÇÃO AO AR**

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

Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme.

Belo Horizonte - MG  
Escola de Veterinária - UFMG

2015

L732c Lima, Eduardo Moura de, 1985-  
Composição química, digestibilidade *in vitro* e qualidade das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar / Eduardo Moura de Lima. – 2015. 54 p. : il.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

1. Silagem – Qualidade – Teses. 2. Milho – Silagem – Teses. 3. Valor nutricional – Teses. 4. Digestibilidade – Teses. I. Jayme, Diogo Gonzaga. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 633.2

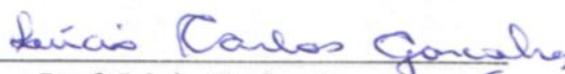
Tese defendida e aprovada em 14 de julho de 2015.

Comissão examinadora:



---

Prof. Diogo Gonzaga Jayme  
Orientador



---

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves



---

José Avelino dos Santos Rodrigues

## **DEDICATÓRIA**

As os meus pais Ahaci Miguel de Lima e Maria Undina de Lima, que por mais distante que estejam sempre estarão comigo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela minha existência.

Aos professores Diogo Gonzaga Jayme e Lúcio Carlos Gonçalves, pela oportunidade, confiança, apoio e ensinamentos.

Ao pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Dr. José Avelino Santos Rodrigues, pelo empenho, profissionalismo e apoio durante a realização deste experimento.

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

Aos professores que contribuíram para minha formação ao longo desta caminhada.

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

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

Aos meus irmãos Edivaldo e Sonia, pelo apoio e incentivo de sempre.

Aos meus sobrinhos Mateus, Nicole, Regina e Rodrigo.

À minha madrinha Luci, seu marido Geraldo, meus tios Elzira, Luiza e Narcísio, pelo acolhimento e apoio ao longo da minha graduação e pós-graduação.

À minha namorada Bruna, pelo amor, paciência, incentivo e compreensão.

Aos meus primos Dudu, Guto, Laura, Marcos e Maurício, pelo incentivo de sempre.

Ao Jerferson, José Fernandes e a Meire, pela amizade e incentivo.

Aos funcionários do laboratório de Nutrição Animal, Fabiana e Toninho.

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

## Sumário

RESUMO .....	8
1.INTRODUÇÃO GERAL .....	11
2.REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1. Silagem de milho .....	12
2.2.Processo de ensilagem .....	12
2.3.Deterioração aeróbia das silagens .....	13
2.4. Microrganismos envolvidos no processo de deterioração .....	14
2.4.1.Leveduras .....	15
2.4.2.Fungos .....	15
2.4.3.Bactérias .....	16
2.5.Fatores que influenciam a deterioração aeróbia das silagens .....	17
2.5.1.Temperatura ambiente .....	17
2.5.2.Substratos fermentáveis .....	18
2.5.3.Presença de oxigênio .....	19
2.6.Avaliação da estabilidade aeróbia das silagens .....	20
2.7.Reensilagem .....	21
3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22
ARTIGO .....	30
Composição química, digestibilidade <i>in vitro</i> e qualidade das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar .....	30
MATERIAL E MÉTODOS .....	32
RESULTADOS .....	35
DISCUSSÃO .....	39
CONCLUSÃO .....	42
AGRADECIMENTOS .....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42
ANEXO I .....	45
Coefficientes de correlação de Pearson .....	45

---

## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1.	Valores de composição química e frações das plantas de milho utilizadas na ensilagem	32
-		
Tabela 2.	Temperatura ambiente observada nos horários de 12, 16 e 24 horas, e temperatura ambiente máxima e mínima observada durante cada dia da reensilagem	33
-		
Tabela 3.	Composição química, digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca e recuperação de matéria seca das silagens de milho reensiladas em diferentes tempos de exposição ao ar	36
-		
Tabela 4.	Qualidade das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar	37
-		
Tabela 5.	Valores de contagem leveduras, fungos e bactérias, e atividade de água de silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar	37
-		
Tabela 6.	Tabela 6. Valores de temperatura obtidos durante a avaliação da estabilidade aeróbia de silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar	38
-		

---

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1.	Valores de pH ao longo dos tempos de avaliação da estabilidade aeróbia das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar	38
-		

---

## LISTA DE ABREVIACÕES

---

%	= Porcentagem.
°C	= GrausCelsius.
°C/hora	= Taxa de aquecimento.
H	= Horas.
AGVs	= Ácidosgraxosvoláteis.
Aw	= Atividade de água.
CNF	= Carboidratosnãofibrosos.
DIVMS	= Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca.

DRBC	= Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol.
FDA	= Fibradetergenteácido.
FDN	= Fibradetergenteneutro.
G	= Gramas.
H t°C Máx.	= Horas necessárias para atingir a temperatura máxima.
Kg	= Quilograma.
MO	= Matériaorgânica.
MS	= Matériaseca.
N-NH <sub>3</sub> /NT	= Nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total.
PCA	= ÁgarContagemPadrão.
PB	= Proteínabruta.
RMS	= Recuperação de matériaseca.
TGY	= Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar.
t.2°C	= Horas necessárias para elevação da temperatura das silagens acima de 2°C em relação à temperatura ambiente.
t°C máx,	= Temperatura máxima.
Ufc	= Unidadesformadoras de colônia.

---

## RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar a composição química, a digestibilidade *in vitro*, a qualidade e a estabilidade aeróbia de silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar. O estudo foi realizado simulando a transferência de silagens e a sua reensilagem. Foram confeccionados 20 silos, e após 150 dias 15 deles foram desensilados e reensilados nos tempos de 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar. Quanto à composição química das silagens, os diferentes tempos de exposição ao ar influenciaram somente os conteúdos de lignina ( $P < 0,05$ ). Esta variável apresentou um comportamento quadrático ( $P < 0,01$ ). Já os demais componentes químicos não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes tempos de reensilagem, sendo observados valores médios de 413,2 g/kg MS de FDN e 215,1 g/kgMS de FDA. Estes baixos valores de FDN e FDA podem justificados pela grande participação de espigas na forragem ensilada, que foi de 520,2g/kg MS. Os valores médios de digestibilidade *in vitro* da matéria seca foram de 661.1g/kg MS ( $P > 0,05$ ). Quanto aos parâmetros de qualidade das silagens, foram observados uma pequena alteração ( $P < 0,01$ ) dos valores de pH. Os valores de pH apresentaram um comportamento linear ( $P < 0,01$ ) e quadrático ( $P < 0,05$ ) em função dos tempos de reensilagem. Os valores médios de ácido láctico, ácido acético e ácido propiônico, foram 661,1, 15,9 e 4,08 g/kg MS, respectivamente. A população microbológica também não foi influenciada pelos diferentes tempos de reensilagem, com valores médios de  $1,5 \times 10^4$ ,  $2,1 \times 10^4$  e  $3,4 \times 10^6$  ufc/g de silagem, para a população de leveduras, fungos e bactérias, respectivamente. Os diferentes tempos de reensilagem não influenciaram a perda de estabilidade aeróbia dos materiais avaliados, sendo que os valores de temperatura e pH se mantiveram estáveis nas primeiras 54 horas de avaliação da estabilidade aeróbia. De acordo com os resultados, as silagens de milho de boa qualidade podem ser transferidas em até 48 horas após a desensilagem.

**Palavras-chave:** exposição aeróbia, qualidade das silagens, reensilagem, valor nutricional

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A ensilagem compreende a conservação de alimentos em ambientes ácidos e anaeróbios. Neste ambiente, um grupo específico de bactérias fermentam carboidratos solúveis e produzem ácido lático, que age reduzindo o pH e impedindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis.

O processo de ensilagem é dividido em quatro fases, sendo elas: fase aeróbia inicial, fase de fermentação, fase estável e fase de desabastecimento. Durante muito tempo, a maior preocupação se concentrava na segunda e terceira fase. No entanto, as alterações que podem ocorrer durante a quarta fase, principalmente devido à presença do oxigênio, são tão importantes quanto as anteriores.

A presença do oxigênio em contato com a silagem, antes da abertura do silo e durante o seu desabastecimento, transforma o ambiente que era anaeróbio em aeróbio. Nesta ocasião, os microrganismos que estavam em dormência começam a se multiplicar, consumindo nutrientes, produzindo CO<sub>2</sub>, água e aumentando a temperatura do material ensilado, e afetando assim a estabilidade aeróbia do material ensilado. Além de consumir os nutrientes, alguns microrganismos podem produzir substâncias tóxicas, as micotoxinas, as quais são prejudiciais à saúde dos animais (McDonald, 1991).

Em condições ideais de confecção e utilização das silagens, é inevitável a ocorrência de deterioração aeróbia durante o enchimento e desabastecimento do silo. Em silos bem manejados, as maiores perdas aeróbias ocorrem durante a utilização das silagens, sendo que a presença do oxigênio nas fases que antecedem a sua utilização pode potencializar o processo de deterioração. O manejo de ensilagem, a vedação incorreta do silo e a “reensilagem”, são os principais fatores que contribuem para a presença do oxigênio no silo, antes da sua utilização.

O processo de reensilagem consiste na transferência das silagens entre locais de armazenamento e, tal prática, pode demorar horas ou até mais de um dia, no qual as silagens ficam expostas ao ar (Chen et al., 2014). Assim, tal intervenção pode proporcionar perdas aeróbias durante a sua realização e/ou durante a utilização das silagens.

Se por um lado a reensilagem pode parecer ruim, devido a possível redução da qualidade das silagens e risco a saúde dos animais, por outro ela pode ser uma alternativa para viabilizar sistemas de produção onde a fertilidade do solo, o tamanho da propriedade e a mão de obra, são fatores limitantes a produção de volumosos. Por isso, é preciso avaliar esse processo, para

determinar a qualidade destas silagens, e o período mais apropriado para a reensilagem de silagens de milho.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Silagem de milho**

No cenário mundial de produção de carne e leite, o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial com 211,764 milhões de cabeças, sendo o maior exportador de carne bovina e o quinto maior produtor de leite, com 34,255 bilhões de litros (IBGE, 2013). Apesar desta expressiva produção, a pecuária brasileira ainda enfrenta algumas limitações, principalmente devido à irregularidade produção e qualidade das pastagens ao longo do ano. Por isso, algumas estratégias alimentares como a conservação de volumosos na forma de silagens, tem assumido grande importância para a pecuária brasileira. Além disso, a utilização das silagens também tem contribuído para maior intensificação dos sistemas de produção de carne e leite.

Em um estudo realizado sobre a prática e utilização das silagens no Brasil, Bernardes et al. (2014) verificaram que dos 215 produtores entrevistados, 82,7% relataram que utilizam o milho para a ensilagem sozinho ou em consórcio com outras forrageiras. Nos Estados Unidos e na Europa, a silagem de milho também é a principal fonte de volumoso para os animais (Driehuis et al., 2000). Devido a sua facilidade para formação de lavouras, alta produção e boa aceitabilidade pelo gado, o milho tem se tornado a cultura preferida para produção de silagem. No entanto, além da cultura utilizada, a qualidade das silagens depende do material ensilado, do tipo de microrganismos que atuará durante todo o processo de conservação até o alimento ser consumido pelos animais. Logo, o valor nutritivo das silagens está diretamente ligado às características agrônômicas da forragem ensilada e ao seu processo de conservação.

### **2.2. Processo de ensilagem**

A ensilagem é uma técnica de conservação de forrageiras, subprodutos agrícolas ou agroindustriais em meio ácido e anaeróbio. Neste ambiente, um grupo específico de bactérias fermentam carboidratos solúveis e produzem ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, que agem inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis. Mas, se o pH não é reduzido rapidamente, os microrganismos indesejáveis podem competir pelos nutrientes e reduzir as chances de se obter uma silagem de qualidade.

Os microrganismos indesejáveis são os organismos envolvidos na deterioração anaeróbia (clostrídios e enterobactérias) e os envolvidos na deterioração aeróbica (leveduras, fungos e listéria) (Driehuis et al., 2000).

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

I. Fase aeróbia inicial: quando o oxigênio está presente e o pH está com valores próximos a 6,0 e 6,5. Nesta fase ocorre respiração das plantas e atividade de proteases e microrganismos aeróbios.

II. Fase de fermentação: ocorre durante várias semanas após o meio ficar anaeróbio. Nesta fase há predomínio de bactérias ácido lácticas, que reduz o pH para valores entre 3,8 a 5,0 e inibe a ação de vários microrganismos indesejáveis.

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

IV. Fase de desabastecimento: Nesta fase o ar entra em contato com a silagem reativando vários microrganismos aeróbios, principalmente leveduras, fungos e bactérias ácido acéticas.

Durante muito tempo a maior preocupação se concentrava na segunda e terceira fase, mas precisamente na segunda. Entretanto, em relação ao valor nutritivo das silagens e a saúde dos animais, as alterações que podem ocorrer durante a quarta fase (fase de desabastecimento) são tão importantes quanto as anteriores (Wilkinson et al., 2012). Nesta fase, a presença do oxigênio, favorece o crescimento dos microrganismos que estavam em dormência, que agem consumindo nutrientes e produzindo CO<sub>2</sub> e água. Este fenômeno é caracterizado como deterioração aeróbia das silagens. A deterioração aeróbia é um dos principais problemas para a rentabilidade das explorações pecuárias no mundo, comprometendo boa parte dos esforços feitos para se obter qualidade dos materiais ensilados e produtividade por ha<sup>-1</sup> (Tabacco et al., 2011).

### **2.3. Deterioração aeróbia das silagens**

O processo de deterioração pode ser caracterizado pela degradação dos ácidos orgânicos devido a ação das leveduras e, ocasionalmente bactérias ácido acéticas, resultando em aumento do pH que irá permitir o crescimento de bacilos, fungos e enterobactérias (Tangni et

al., 2013). Associado a este processo, ocorre redução do valor nutritivo das silagens e da produção animal, risco de intoxicações e até a morte dos animais que consomem este alimento (Pitt et al., 1993). Tais riscos estão presentes, por que alguns fungos produzem substâncias tóxicas, as micotoxinas, as quais são prejudiciais aos animais (McDonald, 1991) e a qualidade do leite (Driehuis et al., 2000).

As perdas no processo de ensilagem podem ocorrer por ação de enzimas da planta, por fermentação anaeróbia, perdas por efluentes e perdas aeróbias devido à presença de oxigênio durante a fase de enchimento, conservação e desabastecimento dos silos (Pitt et al., 1986). Em condições ideais de armazenamento e desabastecimento dos silos, as perdas de matéria seca (MS) variam de 12 a 16% (Holmes et al., 2007). Segundo Velho et al. (2006), as perdas de matéria seca decorrentes da infiltração de ar durante o enchimento do silo variam de 1 a 2%, enquanto que as decorrentes da aeração na “desensilagem” variam de 2 a 19%. Já Tangniet et al. (2013), relataram que nas áreas afetadas pela deterioração aeróbia, as perdas de MS podem ser de 1,5 a 4,5% por dia.

Na prática, a deterioração aeróbia das silagens geralmente é manifestada por aparecimento de fungos e aumento da temperatura (Matos et al., 2006). O acúmulo de temperatura após a abertura do silo é reflexo da intensidade de reações promovidas por fungos, leveduras e bactérias aeróbias (Amaral et al., 2008). Em algumas silagens dois picos de temperatura são detectados durante a deterioração aeróbica, com o primeiro ocorrendo cerca de dois ou três dias após a exposição aeróbica, e refere-se ao desenvolvimento de leveduras, e o segundo ocorrendo cerca de três ou quatro dias mais tarde, sendo causado pelo desenvolvimento dos fungos (McDonald, 1991). Tabacco et al. (2009), avaliando as silagens milho e de sorgo em aerobiose, verificaram um pico de temperatura no segundo e terceiro dia, e outro no sexto e oitavo dia, para as silagens de milho e sorgo, respectivamente. O primeiro e segundo pico de temperatura, ocorreram no momento em que as leveduras e os fungos apresentavam altas taxas de crescimento. Após o primeiro pico de temperatura foi observado uma alta elevação do pH. O aumento do pH possibilita o crescimento dos vários microrganismos envolvidos no processo de deterioração.

#### **2.4. Microrganismos envolvidos no processo de deterioração**

A respiração dos microrganismos aeróbios pode ser considerada como um dos principais agentes que influenciam a qualidade das silagens (Guimet et al., 2002). Os principais substratos utilizados por estes microrganismos são os ácidos orgânicos, o etanol e os açúcares

solúveis, resultando em aumento do pH e redução na digestibilidade e no conteúdo de energia (Jobim et al., 2007).

#### **2.4.1. Leveduras**

As leveduras são microrganismos aeróbios facultativos, ou seja, podem crescer tanto em ambiente aeróbio quanto em anaeróbio. Em condições anaeróbicas as leveduras obtêm energia por meio da fermentação de açúcares (Driehuis et al., 2000), mas em condições aeróbicas elas utilizam uma variedade de substratos como ácidos orgânicos, lactato, acetato, citrato, malato e succinato (McDonald, 1991).

As leveduras são responsáveis por iniciar o processo de deterioração aeróbia das silagens através da oxidação dos ácidos orgânicos (Driehuis et al., 2001) e carboidratos solúveis (Koc et al., 2009). A razão para isto, é que muitas leveduras são capazes de crescer em pH de até 3,5, que é um valor abaixo do encontrado na maioria das silagens (Muck, 2010). O maior crescimento das leveduras ocorre em temperaturas de 37°C e pH igual a seis, sendo que em pH próximo a 3,5 a sua taxa de crescimento reduz em até 80% (Pitt et al., 1992). Em condições ótimas para o seu crescimento, as leveduras podem duplicar em número, em cerca de 2 horas (Kung, 2010).

A presença das leveduras é indesejável devido ao consumo de açúcares e liberação de CO<sub>2</sub>, resultando em perda de matéria seca, além da liberação de calor que provoca aumento de produtos da reação de “Maillard” (Jobim et al., 1997). Além disso, a atividade metabólica das leveduras também implica em aumento do pH, que ao chegar a valores próximos de cinco permite o desenvolvimento dos principais fungos e bactérias associados a deterioração aeróbia das silagens.

Rossi et al. (2007), avaliando amostras de silagens coletadas na face do silo, observaram que as principais espécies de leveduras foram *Candida apicola*, *Candida mesentericae* e *Pichia fermentans*. Segundo Pereira et al. (2002), as principais leveduras que iniciam o processo de deterioração são *Candida krusei*, *Pichia fermentans* e *Hansenula anomala*. Nancy et al. (1979), avaliando as silagens expostas em aerobiose observaram que os gêneros prevalentes nas silagens de alfafa foram *Candida* e *Endomyces*, e nas silagens de trigo foram *Hansenula* e *Candida*.

#### **2.4.2. Fungos**

Os fungos são microrganismos aeróbios e o seu crescimento nas silagens é normalmente restrito as camadas superficiais e muitas vezes indica falha na compactação e/ou vedação dos silos (Driehuis et al., 2000). Já na deterioração aeróbia das silagens eles podem ser encontrados em toda a silagem (Cheliet et al., 2013).

A população de fungos não apresenta grande impacto nas perdas totais da qualidade das silagens, podendo ser justificada pelo seu ciclo longo de multiplicação, que pode variar de 3 a 14 dias, dependendo da espécie. Porém, quando as silagens passam por maiores períodos de exposição aeróbia, o envolvimento destes microrganismos no processo de deterioração torna-se significativo.

A presença dos fungos é indesejável, pois além de quebrarem os açúcares e o ácido láctico pela via normal da respiração, eles também hidrolisam e metabolizam celulose e outros componentes da parede celular (Guimet et al., 2002). O desenvolvimento dos fungos também pode causar a descoloração e mudanças de textura da forragem, que são frequentemente associados com uma diminuição da palatabilidade e consumo pelos animais (Tangniet et al., 2013). Além disso, alguns fungos podem oferecer riscos aos animais e as pessoas pela produção e transferência de micotoxinas ao longo da cadeia alimentar (Borreani et al., 2008).

Os principais fungos encontrados nas silagens de milho e capim são *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp e *Fusarium* spp (Cheliet et al., 2013). Orsi et al. (2000) avaliando 195 amostras grãos de milho no Brasil, verificaram que *Fusarium* spp foram os fungos mais frequentes, seguido por *Penicillium* spp, *Aspergillus* spp, *Trichosporon* spp, *Cladosporium* spp e fungos não esporulados. Sendo que, *Aspergillus* spp e *Fusarium* spp, produzem as toxinas de maior importância para a saúde animal (Kocet et al., 2009). No entanto, a presença do fungo no alimento não implica, obrigatoriamente, em produção de micotoxina, assim como, a toxina pode estar presente no alimento mesmo na ausência do fungo (Pereira et al., 2002).

### **2.4.3. Bactérias**

O papel das leveduras e dos fungos que no processo de deterioração aeróbia tem sido bastante discutido, enquanto o papel das bactérias em tal processo ainda tem sido negligenciado (Liu et al., 2013).

As bactérias ácido acéticas geralmente iniciam o processo de deterioração aeróbia das silagens, metabolizando etanol e produzindo ácido acético, sendo que, em situações de baixa quantidade de etanol, elas podem metabolizar ácido acético e produzir CO<sub>2</sub> (Muck, 2010). Estas bactérias, ao consumir estes substratos provocam aumento do pH, possibilitando assim,

o surgimento de outros microrganismos responsáveis pelo processo de deterioração, como os *Bacillus* spp.

Após a temperatura das silagens atingirem valor superior a 40°C ocorre um declínio na população de leveduras e um aumento na população de *Bacillus*spp (Johnson et al., 2002) e um novo pico de temperatura ocorre com valores superando 50 °C (Muck, 2010).

A presença dos *Bacillus*spp pode provocar alterações significativas nas silagens, especialmente no conteúdo de proteínas, uma vez que a maioria destes microrganismos são proteolíticos (Bernardes et al., 2007).

Além dos *Bacillus*spp, outras bactérias proteolíticas, como as do gênero *Clostridium*, podem estar presentes na deterioração aeróbia das silagens. Segundo (McDonald, 1991), estes microrganismos podem se desenvolver em microambientes anaeróbios criados por microrganismos aeróbios, como leveduras e *Bacillus* spp.

## **2.5. Fatores que influenciam a deterioração aeróbia das silagens**

Os principais fatores que influenciam a deterioração aeróbia das silagens são a temperatura ambiente, disponibilidade de substratos fermentáveis e oxigênio. Em condições ideais de temperatura e presença de nutrientes, a deterioração das silagens é influenciada diretamente pela disponibilidade de oxigênio.

### **2.5.1. Temperatura ambiente**

Dentro de certos limites, a atividade aeróbia dos microrganismos em silagens, aumenta geometricamente com a temperatura do ambiente, podendo duplicar para cada aumento de 10 °C (Holmes et al., 2007). Desta forma, os cuidados com a estabilidade aeróbia da silagem são especialmente importantes no período do verão (Gimenes et al., 2006).

Ashbeillet al. (2002) estudaram os efeitos da temperatura ambiente sobre a estabilidade aeróbica das silagens de trigo e milho submetidas as temperaturas de 10, 20, 30 e 40°C, durante 3 e 6 dias de exposição aeróbia. Nas silagens de milho o pH foi maior na temperatura de 30°C em relação as demais temperaturas, tanto no terceiro quanto no sexto dia ( $p < 0,05$ ). Já nas silagens de trigo, os valores de pH nas diferentes temperaturas de exposição eram mais estáveis, exceto para um aumento do pH na primeira silagem a temperatura de 30°C ( $p < 0,05$ ). Ambas as silagens apresentaram maior produção de CO<sub>2</sub> na temperatura de 30°C e menor nas temperaturas de 10 e 40°C, tanto no terceiro quanto no sexto dia, e com um aumento da produção de CO<sub>2</sub> em função dos tempos avaliados ( $p < 0,05$ ). No sexto dia de avaliação os

teores de ácido lático e ácido acético reduziram nas temperaturas de 20 e 30°C em relação aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ). As maiores perdas nas silagens de milho e trigo foram observadas nas temperaturas de 20 e 30°C. Já Kocet al. (2009), avaliando a estabilidade aeróbia de silagens oriundas de silos mantidos sob temperaturas constantes de 20, 30 e 37°C, observaram que as maiores produções de CO<sub>2</sub> foram verificadas nas silagens mantidas a 30 e 37°C.

É impossível controlar a temperatura ambiente, porém, a sua importância deve ser conhecida e relacionada com os outros fatores que também contribuirão para o crescimento dos microrganismos aeróbios.

### **2.5.2. Substratos fermentáveis**

A atividade dos microrganismos que deterioram a silagem será mais intensa, quanto melhor for a qualidade da silagem, em função dos maiores teores de ácido lático e carboidratos residuais (Jobim et al., 2007).

Segundo Matos et al. (2006), as silagens mais susceptíveis a deterioração aeróbia são as de milho, que além de serem ricas em carboidratos solúveis, contém também alto teor de amido. Andrade et al. (2012), avaliando as silagens de capim elefante com e sem a adição de fubá de milho, e com o fubá adicionado individualmente ou em conjunto com a casca de soja, observaram que a presença do fubá tornou as silagens mais instáveis. Logo, se por um lado as silagens de alto valor nutritivo representam uma excelente alternativa para a alimentação animal, por outro, elas requerem uma maior atenção durante o seu armazenamento e utilização.

Além de influenciar a taxa de deterioração, as condições de meio também irão influenciar qual tipo de microrganismo estará presente no processo deterioração das silagens. As silagens de gramíneas tropicais apresentaram deterioração caracterizada principalmente por bactérias aeróbias, devido as suas particularidades como estabilidade de fermentação em pH acima de 4,5 e ausência de substrato para o crescimento de leveduras (Andrade et al., 2012). Já em silagens com alta quantidade de substratos fermentáveis, a deterioração aeróbia geralmente é mais intensa, e com grande presença das leveduras. Bernardes et al. (2009) estudando as alterações químicas e microbiológicas das silagens de capim-marandu sem e com a adição de polpa cítrica (silagem de capim-marandu + 5% polpa cítrica peletizada (PCP) e silagem do capim-marandu + 10% de PCP) no momento da abertura dos silos e após 2, 4 e 6 dias após a abertura dos silos. Os autores verificaram que todas as silagens apresentaram-se

instáveis, seja pelo desenvolvimento de bactérias ou pelo desenvolvimento de leveduras. Entretanto, somente a silagem sem o acréscimo de polpa cítrica apresentou crescimento de *Bacillus* spp nos dias 0 (2,0 log<sub>10</sub>ufc/g), 2 (2,1 log<sub>10</sub>ufc/g), 4 (2,8 log<sub>10</sub>ufc/g), e 6 (3,2 log<sub>10</sub>ufc/g) de exposição aeróbia (p<0,05), por outro lado, as silagens com 100 gramas de aditivo (PCP) foi detectado um aumento na população de leveduras, que foi de 2,4 log<sub>10</sub>ufc/g no início das avaliações e de 2,8 log<sub>10</sub>ufc/g no sexto dia de aeração (p<0,05).

As condições de meio e temperatura, afetam diretamente o crescimento dos microrganismos aeróbios, porém, o fator mais importante e mais fácil de controlar, principalmente devido aos corretos procedimentos de confecção, armazenamento e utilização da silagem, é a presença do oxigênio.

### **2.5.3. Presença de oxigênio**

A presença do oxigênio no silo está relacionada a características da planta no momento da ensilagem, como tamanho de partícula e altos teores de matéria seca, falha na compactação e vedação dos silos, e também devido à exposição das silagens ao ar antes e durante a sua utilização.

Parsonet al. (1991) avaliando a penetração do ar na abertura dos silos, verificaram que a concentração de oxigênio e a contagem de microrganismos era maior na parte superior do painel do silo, onde a compactação era menos eficiente. Os autores também verificaram que na parte superior do silo, que era menos compactada, o oxigênio penetrou quatro metros, enquanto na parte inferior, mais compactada, a penetração foi de apenas um metro.

A presença do oxigênio no momento de abertura dos silos inevitavelmente proporciona a deterioração aeróbia das silagens, no entanto, se a exposição for antes do momento de utilização das silagens, as consequências podem ser maiores. Dolciet al. (2011), avaliando silagens armazenadas por 110 dias utilizando filmes de polietileno de diferentes porosidades, observaram que na abertura dos silos, as silagens armazenadas com o filme de menor porosidade apresentaram contagem de fungos e leveduras de 1,41 e 1,17 log<sub>10</sub>/ufc, enquanto para as silagens armazenadas com o filme de maior porosidade, a contagem de fungos e leveduras foram 1,74 e 3,12 log<sub>10</sub>/ufc, respectivamente. Já a perda de estabilidade aeróbia destas silagens ocorreu após 152 e 65 horas, para o filme de menor e maior porosidade, respectivamente. Neste sentido, (McDonald, 1991), descreve que a redução da concentração de oxigênio na silagem é a forma mais eficiente de controlar a deterioração aeróbia das silagens, antes e durante a sua utilização.

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

A resistência da silagem a deterioração após a sua exposição ao ar, ou velocidade com que a silagem se deteriora, é conceituada como estabilidade aeróbia das silagens (Jobim et al., 2007). A estabilidade aeróbia das silagens é normalmente determinada em condições de laboratório, com amostras de silagens colocadas em caixas de isopor e mantidas sob temperatura ambiente constante (Wilkinson et al., 2012).

Devido à importância da deterioração aeróbia das silagens para nutrição e saúde animal, vários pesquisadores têm proposto algumas metodologias para avaliar a presença dos microrganismos e seus impactos na qualidade das silagens. Estas metodologias incluem principalmente a avaliação químico-bromatológica e quantificação de microrganismos aeróbios e os produtos de seu metabolismo.

Por se tratar de um processo microbiológico, a avaliação do crescimento dos microrganismos envolvidos no processo é a análise mais importante. No entanto, segundo Borreaniet al. (2010), a avaliação química e microbiológica da silagem é cara, com análises laboratoriais demoradas, exigindo equipamentos e mão de obra qualificada. Por isso, muitos pesquisadores tem avaliado a deterioração aeróbia das silagens utilizando outras metodologias.

Driehuis et al. (1999) determinaram a estabilidade aeróbica como o tempo necessário para que a temperatura das silagens elevasse em 1°C em relação a temperatura ambiente. Já outros autores, como Bernardes et al. (2007), Tabacco et al. (2011), Ávila et al. (2010) e Ranjit et al. (2000), tem estimado a perda de estabilidade aeróbia como o tempo necessário para que ocorra a elevação de 2 °C da temperatura da silagem em relação a temperatura ambiente. Em relação à temperatura, Borreaniet al. (2010), verificaram correlação positiva entre a temperatura medida a 40 cm de profundidade no painel do silo, com o pH, contagem de leveduras, contagem de fungos, e esporos de clostrídios, e uma correlação negativa com a concentração de ácido láctico, ácido acético, e a concentração de nitratos.

Outros métodos de determinação da deterioração aeróbia das silagens são a temperatura máxima das silagens e o tempo gasto para atingir a temperatura máxima (McEniry et al., 2007). Associado a estes métodos, Ruppelet al. (1995), sugere avaliação da taxa de aquecimento, dividindo-se o valor da temperatura acumulada máxima pelo tempo gasto para atingi-la.

Apesar de ser um dos métodos mais utilizados e de fácil mensuração, a avaliação da temperatura das silagens em ambientes com temperatura controlada não reproduz as

condições encontradas no campo. No entanto, segundo Jobim et al. (2007), estes estudos realizados com temperatura controlada são fundamentais para comparar tratamentos, e até o presente, a única solução metodológica para pesquisa. Já para Ashbellet al. (1990), a mensuração da produção de CO<sub>2</sub> separadamente ou em combinação com outras variáveis tais como o pH, o ácido lático, os ácidos graxos voláteis e a avaliação microbiológica, pode servir como um método confiável para determinar a deterioração aeróbica de silagens em condições laboratoriais.

## **2.7. Reensilagem**

Em condições ideais de confecção e utilização das silagens, é inevitável a ocorrência de deterioração aeróbia durante o enchimento e desabastecimento dos silos. Porém, atualmente uma série de fatores tem contribuído para agravar estes processos de deterioração, principalmente antes do desabastecimento dos silos. Os principais fatores ligados à deterioração aeróbia das silagens antes da sua utilização estão ligados a falhas no processo de ensilagem, a vedação dos silos, e a transferência de silagens e sua reensilagem. Esta tem sido muito realizada no Brasil e em algumas regiões do mundo como Estados Unidos e em Israel.

No Brasil, a necessidade de aquisição de silagem e a reensilagem das mesmas, está ligada a fatores climáticos, como falta ou irregularidade de chuvas; fatores acidentais, como ocorrência de queimadas; e a fatores técnicos, como planejamento incorreto. Outros fatores, como a falta de mão de obra e a disponibilidade de terra para produção de volumosos, também tem justificado a aquisição de silagens e sua reensilagem.

A transferência de silagens entre silos envolve o desabastecimento do silo, o transporte e recompactação da silagem e a vedação dos silos, e tais operações podem demorar horas, ou até 1 a 2 dias, durante o qual, a silagem é inevitavelmente exposta ao ar (Chen et al., 2014). Segundo Ranjitet al. (2000), este processo proporciona a exposição aeróbia das silagens antes da sua utilização, podendo ser um dos fatores envolvidos na sua deterioração aeróbia.

Os principais substratos utilizados pelos microrganismos aeróbios presentes nas silagens são os ácidos, o etanol e os açúcares solúveis, resultando em aumento do pH e redução na digestibilidade e no conteúdo de energia. Neste sentido, Chen et al. (2014), avaliando as silagens de milho e trigo, expostas ao ar sob temperatura constantes de 25 °C e reensiladas após 0, 6, 16, 24 e 48 horas e 0, 4, 8, 24 e 48, respectivamente, observaram que os tempos de reensilagem não afetaram os conteúdos de matéria seca, perdas de matéria seca, conteúdo de

ácidos orgânicos, pH e FDN das silagens reensiladas, entretanto, as digestibilidades *in vitro* da MS, foram menores para as silagens de milho no tempo de 48 horas de reensilagem.

Gerlach et al. (2014), trabalhando com silagens de alfafa com e sem a adição de inoculantes na ensilagem, e embaladas em sacos plásticos herméticos (reensilagem) após 2, 4, 6, e 8 dias de exposição ao ar observaram que houve um aumento da contagem de fungos e leveduras ao longo dos tempos de exposição aeróbia. Após estas avaliações as silagens foram armazenadas em sacos plásticos e depois oferecidas a um grupo de cabras, e os autores verificaram uma redução do consumo no sexto e oitavo dia, até mesmo para as silagens que apresentavam poucos sinais de deterioração aeróbia. Já Gerlach et al. (2013), estudando o consumo de ovinos alimentados com silagens de milho expostas ao ar e reensiladas em sacos de plásticos após 2, 4, 6, e 8 dias de exposição ao ar, verificaram que a ingestão de matéria seca diminuiu significativamente para as silagens que ficaram expostas em aerobiose por quatro dias, sendo que, após oito dias de exposição aeróbia, as reduções variam entre 29% e 79% em relação as silagens padrão (sem exposição aeróbia).

A transferência de silagens e a sua reensilagem podem afetar a qualidade da silagem e a saúde dos animais, uma vez que as silagens passam por duas exposições ao ar, antes e durante sua utilização. Porém, é importante que se conheça a magnitudes destas perdas durante este processo, uma vez que, tal prática pode surgir como uma alternativa para propriedades que estão com falta de volumoso devido a limitações climáticas, queimadas, ou onde o solo, a dimensão e a mão de obra são recursos limitantes a produção de volumosos.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, R.C.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. et al. Estabilidade aeróbia de silagens do capim-marandu submetidas a diferentes intensidades de compactação na ensilagem. **Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v.37, n.6, p.977-983, 2008.

ANDRADE, A.P.; QUADROS, D.G.; BEZERRA, A.R.G. Aspectos qualitativos da silagem de capim-elefante com fubá de milho e casca de soja. **Ciências Agrárias**., Londrina, v.33, n.3, p.1209-1218, 2012.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; ARIELI, Y.H. et al. A simple system to study the aerobic determination of silages. **Canadian Agricultural Engineering**., v.33, p.391- 393, 1990.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HEN. Y. et al. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.**, v.28, p. 261-263, 2002.

ÁVILA, C.L.S.; MARTINS, C.E.C.B.; SCHWAN, R.F. Identification and characterization of yeasts in sugarcane silages. **Journal of Applied Microbiology.**, v.109, p.1677–1686, 2010.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R. et al. Estabilidade aeróbia da ração total e de silagens de capim-marandu tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.36, n.4, p.754-762, 2007.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; AMARAL, R.C. Chemical and microbiological changes and aerobic stability of marandu Grass silage after silo opening. **R, Bras, Zootec.**, v.38, n.1, p.1-8, 2009.

BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G.; AMARAL, R.C. Top spoilage losses in maize silage sealed with plastic films with different permeabilities to oxygen. **Grass and Forage Science.**, v. 67, p. 34–42, 2011.

BERNARDES, T.F.; RÊGO, A.C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science.**, v. 97, n. 3, p.1852–1861, 2014.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L.A. New Oxygen Barrier Film Reduces Aerobic Deterioration in Farm-Scale Corn Silage. **Journal of Dairy Science.**, v.90, n. 10, p. 4701–4706, 2007.

BORREANI, G.; BERNARDES, T.F.; TABACCO, E. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality milk and cheese production chains. **R, Bras, Zootec.**, v.37, *suplemento especial* p.68-77, 2008.

BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science.**, v.93, n. 6, p.2620-2629, 2010.

CASTRO, F.G.F.; NUSSIO, L.G.; HADDAD, C.M. et al. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodonsp.*) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Sociedade Brasileira de Zootecnia.**,v.35, n.2, p.358-371, 2006.

CHELI, F.; CAMPAGNOLI, A.; DELL'ORTO, V. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. **Animal Feed Science and Technology.**, v.183, p.1– 16, 2013.

CHEN. Y.; WEINBERG, Z, G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. **Journal of Dairy Science.**, v. 97, n. 1, 2014.

DOLCI, P.; TABACCO, E.; COCOLIN, L.; et al. Microbial Dynamics during Aerobic Exposure of Corn Silage Stored under Oxygen Barrier or Polyethylene Films. **Applied and environmental microbiology.**, v. 77, No, 21, p.7499–7507, 2011.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal of Applied Microbiology.**, v. 87, p.583–594, 1999.

DRIEHUIS, F.; WIKSELAAR, P.G.V. The occurrence and prevention of ethanol fermentation in high-dry-matter grass silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture.**, v. 80, p. 711-718, 2000.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; VAN WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science.**, v.56, p.330-343, 2001.

DRIEHUIS, F.; SPANJER, M.C.; SCHOLTEN.J.M.et al. Occurrence of Mycotoxins in Feedstuffs of Dairy Cows and Estimation of Total Dietary Intakes.**Journal of Dairy Science.**, v. 91, n. 11, p. 4261–4271, 2008.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A review. **Veterinary Quarterly.**, v.22, n.4, p. 212-216, 2011.

GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K.; et al. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. **Agri, Food Sci.**, Berlin. Germany, v.22, p.168 – 181, 2013.

GERLACH, K.; LIAO, Y.; SÜDEKUM, K.H. Aerobic exposure of lucerne silages and its impact on preference and dry matter intake by goats.**Small Ruminant Research.**, v.121, p. 308–313, 2014.

GUIM, A.; ANDRADE, P.; SCHOCKEN.R.P.I.et al. Estabilidade Aeróbica de Silagens de Capim-Elefante (*Pennisetumpurpureum*, Schum) Emurchecido e Tratado com Inoculante Microbiano. **R, Bras, Zootec.**,v.31, n.6, p.2176-2185, 2002.

GIMENES, A.L.G.; MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.B. Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. **ActaSci, Anim, Sci.**,Maringá, v. 28, n. 2, p. 153-158, 2006.

HOLMES, B.J.; MUCK, R.E. Packing bunkers and piles to maximise forage preservation. In: **Proceedings of the 6th International Dairy Housing Conference**, Minneapolis, p. 16–18, 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Prod, Pec, munic.**,Rio de Janeiro, v. 41, p.1-108, 2013.

JOBIM, C.C.; REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. et al. Presença de microrganismos na silagem de grãos úmidos de milho ensilado com diferentes proporções de sabugo. **Pesq, Agropec, bras.**, Brasília, v. 32, n.2, p.201-204, 1997.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **R, Bras, Zootec.**, v.36, suplemento especial, p.101-119, 2007.

JOHNSON. L.M.; HARRISON. J.H.; DAVIDSON. D. et al. Corn Silage Management: Effects of Maturity, Inoculation. and Mechanical Processing on Pack Density and Aerobic Stability. **Journal of Dairy Science.**, v.85, n.2, 2002.

KOC, F.; COSKUNTUNA, L.; OZDUVEN.M.L.The effects of temperature on the silage microbiology and aerobic stability of corn and vetch-grain silages.**Acta Agricultura Scand Section.**, v. 59, p.239-246, 2009.

KUNG, L. "Aerobic stability of silage," Proceedings of California Alfalfa & Forage. **Symposium and Corn/Cereal Silage Conference.**, California, 2010.

LIU, Q.H.; SHAO, T.; ZHANG, J.G. Determination of aerobic deterioration of corn stalk silage caused by aerobic bacteria. **Animal Feed Science and Technology.**, v.183, p.124–131, 2013.

MATOS, D.S.; GUIM, A.; BATISTA, A.M.V. et al. Estabilidade aeróbica e degradabilidade da silagem de maniçoba (*Manihot* sp.) emurhecida. **R, Bras, Ciên. Agrá.**, v.1, n.único, p.109-114, 2006.

McDONALD, P.; HENDERSON. A.R.; HERON. S. **The bioch, of sil.**, 2<sup>a</sup> ed, Marlow: Chalcombe Publications, 340p. 1991.

MCENIRY, J.; KIELY, P.O.; CLISON, N.J.W. et al. The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. **Grass and Forage Science.**, v.62, p.470-484, 2007.

MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **R, Bras, Zootec.**, v.39, p.183-191, supl, especial, 2010.

ORSI, R.B.; CORRÊA, B.; POSSI, C.R. et al. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. **Journal of Stored Products Research.**, v. 36, p. 75-87, 2000.

PARSONS, D.J. Modelling Gas Flow in a Silage Clamp After Opening. **J, agric, Engng Res.**,v.50, p.209-218, 1991.

PEREIRA, M. M.G.; CARVALHO, E.P.; PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. **B, CEPPA.**, Curitiba, v.20, n.1, 2002.

PIPPARD, C.J.; PORTER, M.G.; STEEN, R.W.J. et al. Kilpatrick 'A method for obtaining and storing uniform silage for feeding experiments. **Animal Feed Science Technology.**,v.57 p. 87-95, 1996.

PITT, R.E. Dry Matter Losses Due to Oxygen Infiltration in Silos. **J, agric, Engng Res.**,v.35, p.193-205, 1986.

PITT, R.E.; MUCK, R.E. A Diffusion Model Of Aerobic Deterioration At The Exposed Face Of Bunker Silos. **J, agric, Engng Res.**, v. 55, p. 11-26, 1993.

POSSENTI, R.A.; JUNIOR, E.F.; BUEN.M.S. et al. Parâmetros bromatológicos e fermentativos das silagens de milho e girassol. **Ciência Rural.**, Santa Maria, v.35, n. 5, p.1185-1189, 2005.

RANJIT, N.K.; KUNG, JR.L. The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. **Journal of Dairy Science.**, v. 83, n.3, 2000.

ROSSI, F.; DELLAGLIO, F. Quality of silages from Italian farms as attested by number and identity of microbial indicators. **Journal of Applied Microbiology.**, v.103, p.1707-1715, 2007.

RUPPEL, K. A.; PITT, R. E.; CHASE, L. E. et al. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on Dairy Farms. **Journal of Dairy Science.**, V.78, p.141-15, 1995.

SANTOS, A.O.; ÁVILA, C.L.S.; SCHWAN.R.F. Selection of tropical lactic acid bacteria for enhancing the quality of maize silage. **Journal of Dairy Science.**, v.96, n.12, 2013.

TABACCO, E.; PIANO, S.; CAVALLARIN. L.; et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of Applied Microbiology.**, v.107, p. 1632–1641, 2009.

TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A. et al. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. **Journal of Dairy Science.**, v. 94, n. 3, 2011.

TANGNI, E.K.; PUSSEMIER, L.; VAN HOVE, F. Mycotoxin Contaminating Maize and Grass Silages for Dairy Cattle Feeding: Current State and Challenges. **Journal of Animal Science Advances.**, v. 3, n.10, p.492-511, 2013.

WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage, **Microbiology Reviews.**, v.19, p.53-68, 1996.

WILKINSON. J.M.; DAVIES, D.R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science.**, v.68, p.1–19, 2012.

**O artigo a seguir esta nas normas da revista  
*Canadian Journal of Animal Science* (B1).**

## ARTIGO

### **Composição química, digestibilidade *in vitro* e qualidade das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar**

Eduardo Moura de Lima<sup>1</sup>, Diogo Gonzaga Jayme<sup>1</sup>, Lúcio Carlos Gonçalves<sup>1</sup>, Kelly Moura Keller<sup>1</sup>, José Avelino dos Santos Rodrigues<sup>2</sup>, Fabiana Paiva Coelho Santos<sup>1</sup>, Pedro Henrique Fulgêncio Michel<sup>1</sup>, Vinícius Silveira Raposo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil, Av. Antônio Carlos 6627, CEP: 30.161-970; e <sup>2</sup>Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil; Rod. MG 424 Km 45, Zona Rural, CEP: 35.701-970.

#### **Resumo**

A exposição das silagens ao ar, durante o armazenamento e na transferência de silagens entre silos, pode ocasionar o crescimento de microrganismos aeróbios. Logo, a composição química e a qualidade das silagens podem ser comprometidas. Por isso, o estudo foi realizado simulando a transferência de silagens e a sua reensilagem, e os possíveis efeitos dos tempos de exposição ao ar em relação à composição química, digestibilidade *in vitro* da matéria seca, a qualidade e a estabilidade aeróbia das silagens. Foram confeccionados 20 silos, e após 150 dias, 15 deles foram desensilados e reensilados nos tempos de 12, 24 e 48 de exposição ao ar. Dentre os parâmetros avaliados, foi observado apenas uma variação dos conteúdos de lignina e nos valores de pH ( $P < 0.05$ ). Entretanto, estas alterações não apresentaram importância prática devido à pequena variação observada. Os pH dos tratamentos avaliados apresentaram valores menores que 4,2, que é indicativo de silagens bem preservadas. Portanto, a composição química, a qualidade e a estabilidade aeróbia das silagens, não foram influenciadas pelos diferentes tempos de reensilagem.

**Palavras-chave:** desensilagem, perdas aeróbias, transferência de silagens, reensilagem

## **Abstract**

The exposure of silages to air during storage and during transfer between silos may lead to the growth of aerobic microorganisms, and so compromise the chemical composition and the quality of the silage. In this study we simulated the transfer and re-ensiling of silages to check for possible effects of exposure to air in relation to chemical composition, *in vitro* digestibility of dry matter, and silage quality and aerobic stability. Twenty silos were made, and after 150 days, 15 of them were opened and re-ensiled after 12, 24, and 48 hours of exposure to air. Among the parameters evaluated, we observed variation only in lignin content and pH values ( $P < 0.05$ ). However, these changes did not have practical importance due to the small observed variation. The pH values of the experimental samples were lower than 4.2, which is indicative of well-preserved silages. Therefore, the chemical composition, the quality, and the aerobic stability of silage were not influenced by different periods of air exposure.

**Keywords:** open silage, aerobic losses, transfer silage, re-ensilage

## **INTRODUÇÃO**

O valor nutritivo das silagens está relacionado às características agrônômicas da forrageira ensilada e ao seu processo de conservação. O sucesso deste processo depende da redução do pH e da máxima redução do oxigênio no silo.

A presença do oxigênio contribui negativamente para qualidade das silagens, podendo ocorrer durante enchimento, armazenamento, desabastecimento dos silos (Ashbeillet al., 1990) e durante a transferência de silagens entre silos. Esta tem ocorrido com bastante frequência no Brasil e tem como finalidade suprir a deficiência de volumosos em alguns períodos do ano. A transferência pode ocorrer em horas, ou até em 1 a 2 dias, no qual a silagem é inevitavelmente exposta ao ar (Chen et al., 2014). Desta forma, a reensilagem pode provocar a deterioração das silagens devido à ativação de microrganismos aeróbios.

O processo de deterioração pode ser caracterizado pela degradação dos ácidos orgânicos por ação de leveduras e, ocasionalmente, por bactérias ácido acéticas, resultando em aumento do pH que irá permitir o crescimento de fungos e bactérias aeróbias (Tangni et al., 2013). Em silagens de milho, as perdas aeróbias podem provocar redução de até 20% da matéria seca ensilada (Tabaccoet al., 2009). A deterioração aeróbia das silagens é um processo essencialmente microbiológico e tem como consequência a redução dos nutrientes solúveis e aumento de frações fibrosas, comprometendo assim, o valor nutritivo e a digestibilidade da

silagem. Por isso, objetivou-se com este trabalho avaliar a composição química, a qualidade e a estabilidade aeróbia de silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Ensilagem e reensilagem

O híbrido de milho BRS 1060 foi cultivado no Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS) da EMBRAPA, localizado no município de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (latitude 19° 28'S, longitude 44° 15'W e altitude de 732m). Foram plantados 5 canteiros (parcelas de campo) utilizando-se 400 kg de 08-28-16 (N:P:K) + 0,5% Zn. Após 107 dias de plantio, foram coletadas amostras de plantas inteiras de cada parcela para determinação das frações colmo, folhas e espigas. Já o restante das plantas contidas em cada parcela foi triturado, amostrado para análise químico-bromatológica e ensilado em sacos plásticos que estavam dentro de tambores de 200 litros. Foram utilizados 4 tambores para cada parcela de campo. No centro de cada tambor foi colocado um saco de nylon (porosidade de 50 µm e dimensões de 45 x 23 cm) contendo silagem. Cada saco de nylon teve seu peso aferido antes da ensilagem. Em seguida, os sacos de nylon e as plantas picadas foram compactados e os tambores foram vedados. Após 150 dias, 3 tambores de cada parcela de campo foram desensilados em um galpão coberto e reensilados nos tempos de 12, 24 e 48 horas, utilizando-se os mesmos procedimentos utilizados na ensilagem.

Tabela 1. Valores de composição química e frações das plantas de milho utilizadas na ensilagem

Composição química					
MS <sup>z</sup>	FDN <sup>z</sup>	FDA <sup>z</sup>	PB <sup>z</sup>	EE <sup>z</sup>	Cinzas
(g kg <sup>-1</sup> MS)	(g kg <sup>-1</sup> MS)	(g kg <sup>-1</sup> MS)	(g kg <sup>-1</sup> MS)	(g kg <sup>-1</sup> MS)	(g kg <sup>-1</sup> MS)
386.9	505.5	195.3	68.0	38.3	31.4
Frações das plantas					
Colmos (g kg <sup>-1</sup> MS)		Folhas (g kg <sup>-1</sup> MS)		Espigas (g kg <sup>-1</sup> MS)	
319.3		160.6		520.2	

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

As temperaturas ambiente durante a desensilagem e reensilagem foram obtidas na estação meteorológica Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil (Tabela 2). Após 150 dias de reensilagem, os tambores foram abertos e as silagens contidas em cada saco de nylon foram utilizadas para realizar as análises descritas abaixo.

Tabela 2. Temperatura ambiente observada nos horários de 12, 16 e 24 horas, e temperatura ambiente máxima e mínima observada durante cada dia da reensilagem

Dias da reensilagem	Horário (h)			T. Máx <sup>z</sup>	T. Mín <sup>z</sup>	T. Med <sup>z</sup>
	12	16	24			
10/07/2013	19.7°C	25.8°C	18.2°C	26.6°C	12.9°C	19.12°C
11/07/2013	18.9°C	22.0°C	15.1°C	24.8°C	11.2°C	17.02°C
12/07/2013	19.7°C	24.3°C	16.6°C	25.4°C	10.3°C	17.72°C

<sup>z</sup>TMáx, temperatura máxima, T. Mín, Temperatura mínima, T. Med, temperatura média.

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

As amostras de silagens foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e moídas a 1mm em moinhos (Thomas Modelo 4 Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ). Após este processo, as amostras foram analisadas quanto ao conteúdo de matéria seca em estufa a 105°C [Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990; method ID 934.01]. O conteúdo de proteína bruta (PB) foi mensurado através da determinação da concentração de N total, pelo método Kjeldahl (AOAC 1990; method ID 990.03), onde PB foi calculada como o valor de N x 6,25. Fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente Ácido (FDA) e Lignina em detergente ácido (LDA) foram determinadas pelo método sequencial, utilizando-se os procedimentos descritos por Van Soest et al. (1991). Na análise da FDN foi utilizado a  $\alpha$ -amilase termoestável. O extrato etéreo (EE) foi determinado pelo processo Soxhlet (AOAC, 2000). A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi realizada segundo procedimento descrito por Tilley e Terry (1963) e adaptado por Holden (1999) com a utilização do simulador de rúmen DaisyII (Ankom Technology, Macedon, NY, EUA). Os pesos dos sacos de nylon antes da ensilagem e na desensilagem para coleta de amostras, foram utilizados para determinar a recuperação de matéria seca (RMS) por meio da equação proposta por Jobim et al. (2007).

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

Com auxílio de uma prensa hidráulica foi extraído de cada amostra de silagem 100 ml de suco. Este foi utilizado para determinação do pH, utilizando-se um medidor de pH digital (modelo HI 2210), e conteúdos de nitrogênio amoniacal, pelo método Kjeldahl (AOAC 1990). O restante do suco foi utilizado para determinação dos conteúdos de ácidos láctico, ácido acético e ácido butírico, utilizando-se o equipamento Waters alliance e2695 com Detector PAD 2998 (*photodiodearray detector*) e sistema de separação constituído de coluna de fase reversa C18 ODS 80A (150 x 4,6 mm x 5 µm). As condições de análise foram: Fase móvel isocrática constituída de 100% de solução aquosa ácida, ácido fosfórico, pH 2,35-2,55, fluxo de 1.0 mL/min., temperatura do forno de 40 +/- 5 °C, volume de injeção da amostra de 10 microlitros, corrida de 20 minutos e detector com comprimento de onda de excitação em 210 nm.

### **Análises microbiológicas e de atividade de água**

A análise microbiológica das amostras consistiu no preparo de uma diluição prévia, pesando 25 g de silagem que foram adicionados em um frasco contendo 225 mL de solução peptonada (0,1%) estéril. Este frasco foi agitado por 5 minutos e permaneceu em repouso por 1 minuto. Em seguida, retirou-se 1mL do extrato para as diluições em série ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ), realizadas em tubos de ensaio contendo solução peptonada 0,1%. De cada diluição foi retirado 0,1 ml que foi semeado em placas de Petri contendo o meio Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol (DRBC) para contagem total, que foi realizada após 144 e 168 horas de incubação a 2°C. Para a contagem de bactérias o material foi plaqueado em meio Ágar Contagem Padrão (PCA) e a contagem foi realizada após 24 e 48 horas de incubação a 37°C (Método Pitt e Hocking, 2009). Para a contagem de leveduras o material foi plaqueado em meio Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar (TGY), e a contagem foi realizada após 24, 48 e 72 horas de incubação a 30°C. A atividade de água (aw) de cada amostra foi determinada com o uso do aparelho HygroPalm AW1® (Rotronic, USA), em sala devidamente climatizada. Cada amostra foi colocada em recipiente próprio e o aparelho foi calibrado com soluções-padrão antes de cada dia de aferição.

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

A avaliação da estabilidade aeróbia das silagens foi realizada colocando-se baldes plásticos contendo 1,5 kg de silagem em uma sala climatizada com temperatura constante de

25°C. Os baldes foram cobertos com papel alumínio permitindo que o ar entrasse em contato com a silagem, porém, protegendo-as de contaminações do ambiente. A temperatura das silagens foi registrada nos tempos de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 30, 36, 42, 54, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188 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 por meio do tempo (h) necessário para a elevação da temperatura das silagens em 2°C em relação a temperatura ambiente, e através da temperatura (°C) máxima e o tempo necessário (h) para atingir a temperatura máxima (McEniry et al., 2007). Já a taxa de aquecimento foi obtida dividindo-se o valor da temperatura máxima pelo tempo gasto para atingi-la (Ruppelet al., 1995). Os valores de pH durante a avaliação da estabilidade aeróbia foram determinados pelo método proposto por Silva e Queiroz (2002).

### **Análises estatísticas**

Os dados foram analisados em um delineamento experimental de blocos ao acaso, com o grupo controle (0) e três tempos de reensilagem (12, 24 e 48 horas) e cinco repetições (parcelas de campo). Os valores de contagem de microrganismos passaram por uma transformação logarítmica antes de serem analisados. Para a análise dos resultados foi utilizado o procedimento “GLM” do SAS® de acordo com o modelo abaixo.  $Y_{ij} = \mu + B_i + EC_j + e_{ij}$ . Em que:  $Y_{ij}$  = valor referente à observação do tempo de reensilagem  $j$  no bloco  $i$ ;  $\mu$  = média geral;  $B_i$  = efeito do bloco  $i$  ( $i = 1, 2, 3, 4, 5$ );  $EC_j$  = efeito do tempo de reensilagem  $j$  ( $j = 1, 2, 3, 4$ );  $e_{ij}$  = erro aleatório associado à observação. Polinômios ortogonais foram usados para determinar se o tempo de reensilagem resultou em um efeito linear ou quadrático sobre os parâmetros medidos. As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0.05$ . De acordo com as necessidades, foram realizadas correlações de Pearson entre as variáveis.

## **RESULTADOS**

Entre as variáveis relacionadas à composição química das silagens, foi observada apenas uma alteração dos conteúdos de lignina (Tabela 3;  $P < 0,05$ ). Porém, esta variável não comprometeu a digestibilidade *in vitro* das silagens.

Tabela 3. Composição química, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e recuperação de matéria seca das silagens de milho reensiladas em diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempo de exposição ao ar (h)				EPM <sup>y</sup>	P <sup>x</sup>	Efeito <sup>w</sup>	
	0	12	24	48			L	Q
Matéria seca (g kg <sup>-1</sup> )	371.2	378.6	380.7	395.4	0.79	NS	NS	NS
MO <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	337.3	344.8	347.5	362.7	0.91	NS	NS	NS
Cinzas (g kg <sup>-1</sup> MS)	33.9	33.8	33.2	32.7	0.13	NS	NS	NS
EE <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	40.4	40.1	38.0	42.0	0.15	NS	NS	NS
PB <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	70.6	72.5	72.4	70.5	0.07	NS	NS	NS
CNF <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	447.5	459.4	451.1	465.1	1.27	NS	NS	NS
FDN <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	422.0	408.1	418.9	404.0	1.29	NS	NS	NS
FDA <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	215.6	214.4	217.0	21.34	0.79	NS	NS	NS
Lignina (g kg <sup>-1</sup> MS)	11.4	9.2	9.6	10.3	0.05	*	NS	**
DIVMS <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	646.7	666.0	664.7	667.2	0.81	NS	NS	NS
RMS <sup>z</sup> (g kg <sup>-1</sup> MS)	981.4	988.3	100.2	999.2	2.36	NS	NS	NS

<sup>z</sup>CNF, carboidratos não fibrosos; EE, extrato etéreo; FDA, fibra em detergente ácido; FDN, fibra em detergente neutro; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; RMS, recuperação de matéria seca; DIVMS, digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

<sup>y</sup>EPM, erro padrão da média..

<sup>x</sup>P, significância.

<sup>w</sup>L, linear; Q, quadrático (NS, P>0.05; \*, P< 0.05; \*\*, P<0.01).

Quanto a qualidade das silagens foi observada apenas uma pequena alteração dos valores de pH (Tabela 4; P<0.01).

Os valores de nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH<sub>3</sub>/NT), e conteúdos de ácido lático, ácido acético e ácido butírico, não foram influenciados (P<0,05) pelos diferentes tempos de reensilagem (Tabela 4). O pH e N-NH<sub>3</sub>/NT das silagens avaliadas, apresentaram valores que as caracterizam como bem preservadas.

A contagem de leveduras, fungos e bactérias não foram influenciadas (P>0,05) pelos diferentes tempos de reensilagem (Tabela 5).

Tabela 4. Qualidade das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempo de exposição ao ar (h)				EPM <sup>y</sup>	P <sup>x</sup>	Efeito <sup>w</sup>	
	0	12	24	48			L	Q
Ph	3.61	3.63	3.65	3.64	0.00	**	**	*
N-NH <sub>3</sub> /NT (g kg <sup>-1</sup> MS)	12.7	11.5	11.7	11.0	0.05	NS	NS	NS
Á <sup>z</sup> .lático (g kg <sup>-1</sup> MS)	90.0	94.7	84.8	94.4	0.46	NS	NS	NS
Á <sup>z</sup> .acético (g kg <sup>-1</sup> MS)	16.1	16.9	17.7	16.3	0.12	NS	NS	NS
Á <sup>z</sup> .propiónico (g kg <sup>-1</sup> MS)	3.95	4.19	4.58	4.50	0.05	NS	NS	NS

<sup>z</sup>Á, ácido; NNH<sub>3</sub>/NT, nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total.

<sup>y</sup>EPM, erro padrão da média.

<sup>x</sup>P, significância.

<sup>w</sup>L, linear; Q, quadrático (NS, P>0.05; \*, P< 0.05; \*\*, P<0.01).

Tabela 5. Valores de contagem leveduras, fungos e bactérias, e atividade de água de silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempo de exposição ao ar (h)				EPM <sup>y</sup>	P <sup>x</sup>	Efeito <sup>w</sup>	
	0	12	24	48			L	Q
Leveduras (ufc g <sup>-1</sup> ) <sup>z</sup>	1.8x10 <sup>4</sup>	6.0x10 <sup>3</sup>	4.5x10 <sup>3</sup>	1.8x10 <sup>4</sup>	0.29	NS	NS	NS
Fungos (ufc <sup>-1</sup> ) <sup>z</sup>	4.4x10 <sup>5</sup>	2.0x10 <sup>5</sup>	4.6x10 <sup>2</sup>	2.3x10 <sup>5</sup>	0.54	NS	NS	NS
Bactérias (ufc g <sup>-1</sup> ) <sup>z</sup>	1.3x10 <sup>5</sup>	1.0x10 <sup>7</sup>	9.2x10 <sup>4</sup>	1.3x10 <sup>5</sup>	0.38	NS	NS	NS
Aw <sup>z</sup>	0.94	0.94	0.94	0.94	0.00	NS	NS	NS

<sup>z</sup>Aw, atividade de água; ufc g<sup>-1</sup>, unidades formadoras de colônias por grama de silagem.

<sup>y</sup>EPM, erro padrão da média..

<sup>x</sup>P, significância.

<sup>w</sup>L, linear; Q, quadrático (NS, P>0.05; \*, P< 0.05; \*\*, P<0.01).

O tempo necessário para perder a estabilidade aeróbia, a temperatura máxima das silagens, o tempo gasto para atingir a temperatura máxima e a taxa de aquecimento das silagens não foram influenciados (P>0.05) pelos diferentes tempos de reensilagem (Tabela 6). Sendo que as variáveis relacionadas à temperatura das silagens apresentaram um comportamento bastante similar (Tabela 6) ao longo dos tempos de avaliação da estabilidade aeróbia.

Tabela 6. Valores de temperatura obtidos durante a avaliação da estabilidade aeróbia de silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar

Variável	Tempos de exposição ao ar (h)				EPM <sup>y</sup>	P <sup>x</sup>	Efeito <sup>w</sup>	
	0	12	24	48			L <sup>3</sup>	Q <sup>4</sup>
t. 2°C <sup>z</sup>	97.6	61.60	78.00	68.40	0.98	NS	NS	NS
t.°CMáx <sup>z</sup>	38.10	38.90	38.20	37.90	1.08	NS	NS	NS
H t°CMáx <sup>z</sup>	147	147	149	147	6.11	NS	NS	NS
°C/hora <sup>z</sup>	0.25	0.26	0.25	0.25	0.01	NS	NS	NS

<sup>z</sup>°C/hora, taxa de aquecimento; H t.°C Max, horas necessárias para atingir a temperatura máxima; t.2°C, horas necessárias para elevação da temperatura das silagens acima de 2°C em relação a temperatura ambiente; t.°Cmáx, temperatura acumulada máxima.

<sup>y</sup>EPM: erro padrão da média.

<sup>x</sup>P, significância.

<sup>w</sup>L, linear; Q, quadrático (NS, P>0.05; \*, P< 0.05; \*\*, P<0.01).

Os valores de pH (Figura 1) apresentaram pequena variação entre os tratamentos testados ao longo dos tempos de avaliação da estabilidade aeróbia das silagens. Nas primeiras 54 horas, os valores de pH apresentaram poucas alterações (Figura 1). Porém, logo após este período, houve aumento do pH até o momento em que a temperatura das silagens elevaram em 2°C a sua temperatura em relação a ambiente (Tabela 6).

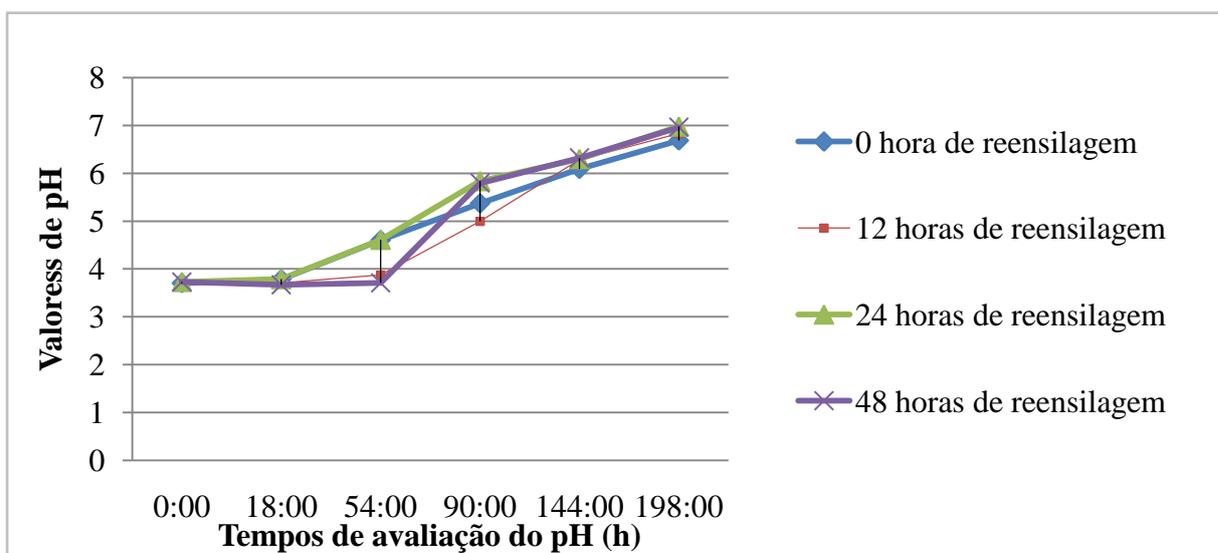


Figura 1. Valores de pH ao longo dos tempos de avaliação da estabilidade aeróbia das silagens de milho reensiladas após diferentes tempos de exposição ao ar.

## DISCUSSÃO

O crescimento de fungos, leveduras e bactérias, durante a deterioração aeróbia das silagens pode ser considerado como um dos principais fatores que influenciam a qualidade das silagens. Os principais substratos utilizados por estes microrganismos são os ácidos orgânicos, o etanol e os açúcares solúveis, resultando em aumento do pH e redução na digestibilidade e no conteúdo de energia das silagens (Jobim et al., 2007). Dentre as silagens, a de milho é a mais susceptível a deterioração aeróbia, podendo apresentar grande redução da sua qualidade e composição química durante sua exposição ao ar. No entanto, os tratamentos testados não comprometeram a composição química (Tabela 3) e qualidade das silagens (Tabela 4), sendo observado apenas uma pequena alteração dos conteúdos de lignina (Tabela 3;  $P < 0,05$ ) e valores de pH (Tabela 4;  $P < 0,01$ ).

A redução dos componentes da parede celular de silagens sujeitas à deterioração aeróbia pode ser ocasionada por ação de fungos. Porém, devido à ausência de alteração ( $P > 0,05$ ) nas contagens destes microrganismos (Tabela 5), a variação dos valores de lignina pode ser atribuída ao método sequencial utilizado para a sua análise. Este método é utilizado para determinar as frações fibrosas dos alimentos em uma sequência específica, sendo que a lignina é determinada indiretamente ao final deste procedimento. Portanto, este componente tende a assumir interferências de todas as análises que antecedem a sua determinação.

Mesmo sendo significativas, as variações dos conteúdos de lignina não assumem importância prática. Tal observação pode ser reforçada pelas pequenas variações deste componente e devido à ausência de variações na digestibilidade *in vitro* das silagens avaliadas (Tabela 3).

Os conteúdos de proteína e extrato etéreo das silagens deste experimento estão de acordo com o reportado por Tedeschiet al.(2002) para as silagens brasileiras, enquanto os valores de FDN e lignina são inferiores. Os menores valores de FDN e lignina podem ser relacionados com a maior participação das espigas na massa ensilada (Tabela 1) e a menor participação das frações colmo e folhas. Estas relações confere aos materiais ensilados um alto valor nutritivo, que bem conservado, resulta em silagens de bom valor nutritivo. Este pode ser verificado pelos valores de digestibilidade *in vitro* dos materiais avaliados (Tabela 3).

Foi observado uma pequena variação ( $P < 0,01$ ) dos valores de pH (Tabela 4). Como não houve alteração ( $P > 0,05$ ) da população de microrganismos na abertura dos silos (Tabela 5), a mudança dos valores de pH pode ser atribuída a evaporação de ácidos orgânicos e compostos

nitrogenados nos momentos que antecederam a obtenção das amostras. De acordo com Wolford et al. (1984), a evaporação destes compostos pode ser ocasionada pela descarga das silagens, e podem ser acompanhadas ou não, de modificações dos valores de pH. Além disso, a diferença ( $P < 0,05$ ) dos valores de pH pode ser relacionada também ao baixo erro padrão da média para esta variável (Tabela 4), que a tornou muito sensível a qualquer modificação numérica. Ao relacionar os valores de conteúdos de matéria seca, pH, nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total e conteúdo de ácidos orgânicos das silagens deste trabalho (Tabela 4) com a qualificação da fermentação proposta por Tomich et al. (2003), pode-se afirmar que todas as silagens foram bem preservadas.

A transferência de silagens e a sua reensilagem dependem, em menor grau, do tempo de exposição ao ar e, em maior grau, do perfil de fermentação e da população de fungos e leveduras (Chen et al., 2014).

Neste estudo, a preservação da qualidade das silagens pode ser justificada pelas baixas contagens de fungos e leveduras (Tabela 5). Isto pode ser confirmado pelo relatado por Tabacco et al. (2009), onde os autores mencionam que as silagens são mais propensas a deterioração aeróbia quando sua população de leveduras é superior a  $10^5$  ufc/grama de silagem, e por Pitt et al (1991), que descreve que a redução da qualidade das silagens ocorre quando a população de fungos e leveduras atingem  $10^8$  e  $10^6$  ufc/grama de silagem, respectivamente.

A deterioração aeróbia das silagens ocorre principalmente por ação de leveduras e fungos, sendo que os fatores que influenciam os crescimentos destes microrganismos podem afetar negativamente a qualidade das silagens (Asbheil et al., 2002). Em silagens, os principais fatores que afetam o crescimento dos microrganismos aeróbios são a presença de substratos fermentáveis, temperatura ambiente e a disponibilidade de oxigênio. As silagens de milho são caracterizadas por serem excelentes fontes de nutrientes para o crescimento dos microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia. No entanto, apesar da disponibilidade de nutrientes e de oxigênio entre os períodos de desensilagem e reensilagem, as temperaturas ambiente e o tempo de exposição ao ar podem ter sido insuficientes para que ocorresse o desenvolvimento dos microrganismos aeróbios.

As silagens de milho são mais susceptíveis a deterioração aeróbia em tempos quentes (Basso et al., 2012). Durante a desensilagem e reensilagem dos materiais, as temperaturas ambiente oscilaram entre 9,1 a 28,9°C, com média de 18,5°C. Logo, a preservação da composição química (Tabela 3) e qualidade das silagens (Tabela 4), e as variações de tempo

de exposição ao ar e temperatura ambiente, podem ser relacionadas com os resultados obtidos por Asbheillet al. (2002). Estes autores só verificaram perdas aeróbias para as silagens de milho após três dias de exposição à temperatura de 30°C, sendo que no sexto dia, os materiais expostos a temperatura de 20°C também manifestaram perdas aeróbias, enquanto as silagens mantidas a 10 e 40°C durante seis dias de exposição ao ar, não sofreram perdas aeróbias. Por isso, neste experimento, a oscilação da temperatura durante a exposição das silagens ao ar, pode ter proporcionado curtos períodos de temperatura ótima para os crescimentos dos microrganismos aeróbios. Portanto, estas condições podem ter limitado o crescimento dos microrganismos envolvidos na fase inicial de deterioração das silagens.

A maior população de fungos e leveduras esta associada a menor estabilidade aeróbia das silagens (Pitt et al., 1991). Tal consideração foi verificada por Dolciet al. (2011), que observaram uma redução da estabilidade aeróbia das silagens de milho em relação ao aumento da população de fungos e leveduras. Sendo que estes crescimentos foram ocasionados devido a maior disponibilidade de oxigênio durante o período de armazenagem. Por isso, nossa hipótese era que a exposição prévia das silagens ao ar, entre os períodos de desensilagem e reensilagem, pudesse ocasionar uma redução da sua estabilidade aeróbia destes materiais. Porém, a falta de alteração da população de microrganismos entre os tratamentos testados contrariou esta hipótese, sendo observado um comportamento similar dos parâmetros avaliados (Tabela 6; Figura 1) durante a avaliação da estabilidade aeróbia das silagens.

A perda de estabilidade aeróbia das silagens é manifestada pelo aumento de temperatura e alteração do pH, que são ocasionados devido as reações promovidas por microrganismos aeróbios. Portanto, pode-se verificar que as silagens se mantiveram estáveis durante um longo período, sendo que as primeiras alterações (Figura 1) observadas foram após 54 horas de exposição ao ar. Após este período foi verificado um grande aumento do pH (Figura 1) até o momento (Tabela 6) que as silagens perderam a sua estabilidade aeróbia. Os valores de pH e perda de estabilidade aeróbia estão de acordo com o reportado na literatura (Addah et al., 2011; Borreani et al., 2014; Kristensen et al., 2010) para silagens de milho que apresentam composição bromatológica, qualidade e contagem de microrganismos muito próximas a verificada neste trabalho.

De acordo com esses resultados, as silagens de milho de boa qualidade podem ser transferidas em até 48 horas, quando as temperaturas médias são de aproximadamente 20°C. Esta consideração está de acordo com Chen et al. (2014), que descreve o sucesso da transferência depende da boa qualidade das silagens, e com Kung Jr. (2010), que relata que a

movimentação de silagens entre estruturas de armazenamento deve ser feita em dias frescos e o mais rápido possível.

## CONCLUSÃO

A composição química, a qualidade e a estabilidade aeróbia das silagens de milho reensiladas, não foram alteradas pelos diferentes tempos de reensilagem.

## AGRADECIMENTOS

Instituições financiadoras/parceiras: Departamento de Zootecnia - Escola de Veterinária UFMG; INCT - CA; EMBRAPA – Milho e Sorgo; CAPES.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Addah, W., Baah, J., Groenewegen, P., Okine, E. K. and McAllister, T. A. 2011.** Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. *Can. J. Anim. Sci.* 91: 133-146.

**Ashbeill, G., Weinberg, Z. G., Hen, Y. and Filya, I. 2002.** The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28: 261-263.

**Ashbell, G., Weinberg, Z. G., Azrieli, a., Hen, Y. and Horev, B. 1990.** A simple system to study the aerobic determination of silages. *Can. Agric. Eng.* 33: 391- 393.

**Basso, F. C., Bernardes, T. F., Roth, A. P. T. P., Lodo, B. N., Berchielli, T. T. and Reis, R.A. 2012.** Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *R. Bras. Zootec.* 41: 1789-1794.

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

**Borreani, G., Piano, S. and Tabacco, E. 2014.** Aerobic stability of maize silage stored under plastic films with different oxygen permeability. *J. Sci. Food Agric.* 94: 2684-2690.

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

**Dolci, P., Tabacco, E., Cocolin, L. and Borreani, G. 2011.** Microbial Dynamics during Aerobic Exposure of Corn Silage Stored under Oxygen Barrier or Polyethylene Films. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 7499-7507.

**Kung, L. Jr. 2010.** Aerobic stability of silage. *Proc. California Alfalfa and Forage Symposium and Crop/cereal Conference.* Visalia, CA, USA.

**Jobim, C. C., Nussio, L. G., Reis, R. A. and Schmidt, P. 2007.** Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *R. Bras. Zootec.* 36: 101-119.

**Kristensen, N. B., Sloth, K. H., Højberg, O., Spliid, N. H., Jensen, C. and Thøgersen, S. 2010.** Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *J. Dairy Sci.* 93: 3764-3774.

**McEniry, J., Kiely, P. O., Clipson, N. J. W., Forristal, P. D. and Doyle, E. M. 2007.** The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass Forage Sci.* 62: 470-484.

**Pitt, R. E., Muck, R. E. and Pickering, N. B. 1991.** A model of aerobic fungal growth in silage: 2. Aerobic stability. *Grass Forage Sci.* 46:301-312.

**Pitt, J. I. and Hocking, A. D. 2009.** *Fungi and food spoilage.* New York: Springer. 519.

**Ruppel, K. A., Pitt, R. E., Chase, L. E. and Galton, D. M. 1995.** Bunker silo management and its relationship to forage preservation on Dairy Farms. *J. Dairy Sci.* 78: 141-153.

**SAS. SAS Software. Version 9.1. 1999.** Cary, North Carolina: SAS Institute Inc.

**Silva, D. J. and Queiroz, A. C. 2002.** *Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos).* 1º reimpressão. Viçosa: UFV, Imp. Univ. 235p.

**Tabacco, E., Piano, S., Cavallarin, L., Bernardes, T.F. and Borreani, B. 2009.** Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. J. Appl. Microbiol. 107: 1632–1641.

**Tangni, E. K., Pussemier, L., and Van hove, F. 2013.** Mycotoxin Contaminating Maize and Grass Silages for Dairy Cattle Feeding: Current State and Challenges, J. Anim. Sci. Adv. 10: 492-511.

**Tedeschi, L. O., Fox, D. G., Pell, A. N., Lanna, D. P. D. and Boin, C. 2002.** Development and evaluation of a tropical feed library for the cornell net carbohydrate and protein system model. Sci. Agricola, 59: 1-18.

**Tilley, J. M. A., and Terry, R. A. 1963.** A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. British Grassland Soc. 18: 104-11.

**Tomich, T. R., Perira, L. G. R., Gonçalves, L. C., Tomich, R. G. P. and Borges, I. 2003.** Características Químicas para Avaliação do Processo Fermentativo de Silagens: uma Proposta para Qualificação da Fermentação. Corumbá: Embrapa Pantanal.

**Van Soest, P. J., Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597

**Woolford, M. K. and Wilkie A. C. 1984.** Investigations into the role of specific micro-organisms in the aerobic deterioration of maize silage. J. agric. Sci., Camb. 102:97-104.

## ANEXO I

### Coeficientes de correlação de Pearson

Todos dados - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlação pearson 16:02 Saturday, August 12, 2000

#### The CORR Procedure

24 Variables: MS MO Cin CNF PB EE FDN  
 FDA Lig TAXA\_oC\_hora temp\_2graus hotmax tmaxi RMS  
 pH NNH3 Aw DIVMS Ac\_Latico Ac\_acetico  
 Ac\_Prop bacterias fungos Leveduras

#### Simple Statistics

Variable	N	Mean	Std Dev	Sum	Minimum	Maximum
MS	20	38.15378	1.74088	763.07550	32.75550	40.92470
MO	20	34.81125	1.96665	696.22490	28.63850	37.91310
Cin	20	3.34253	0.25725	66.85060	2.99690	4.11700
CNF	20	45.58096	2.84910	911.61910	36.92940	49.19720
PB	20	7.15593	0.46164	143.11850	6.37680	8.05960
EE	20	4.01586	0.42736	80.31720	3.47000	5.24000
FDN	20	41.32920	2.76105	826.58400	38.25990	49.84630
FDA	20	21.51473	1.56618	430.29460	18.53100	25.00400
Lig	20	1.00252	0.18503	20.05040	0.73880	1.34330
TAXA_oC_hora	20	0.26091	0.02832	5.21820	0.22560	0.33590
temp_2graus	18	72.55556	26.21006	1306	28.00000	138.00000
hotmax	20	147.80000	13.07307	2956	116.00000	164.00000
tmaxi	20	38.27500	2.27385	765.50000	33.00000	43.00000
RMS	20	99.28900	6.16817	1986	87.26000	110.91000
pH	20	3.63750	0.02712	72.75000	3.58000	3.68000
NNH3	20	1.17650	0.14367	23.52990	1.01070	1.65380
Aw	20	0.94010	0.00755	18.80200	0.92700	0.95700
DIVMS	20	66.11961	1.81144	1322	62.46940	68.12150
Ac_Latico	20	9.09953	1.19154	181.99063	6.95315	11.48252
Ac_acetico	20	1.67808	0.28929	33.56153	1.18204	2.16716
Ac_Prop	20	0.43111	0.10386	8.62216	0.20287	0.60554
bacterias	20	3452930	13731534	69058600	2000	61500000
fungos	20	219610	402918	4392200	100.00000	1000000
Leveduras	20	15440	35945	308800	500.00000	153000

The CORR Procedure

Pearson Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	MS	MO	Cin	CNF	PB	EE	FDN	FDA	Lig
MS	1.00000 <.0001 20	0.99778 <.0001 20	-0.86062 <.0001 20	0.48932 0.0285 20	-0.07726 0.7461 20	0.51384 0.0205 20	-0.50752 0.0224 20	-0.46465 0.0390 20	0.25277 0.2823 20
MO	0.99778 <.0001 20	1.00000 <.0001 20	-0.89263 <.0001 20	0.48255 0.0312 20	-0.05299 0.8244 20	0.54007 0.0140 20	-0.50571 0.0229 20	-0.46499 0.0388 20	0.27176 0.2464 20
Cin	-0.86062 <.0001 20	-0.89263 <.0001 20	1.00000 <.0001 20	-0.37766 0.1007 20	-0.11774 0.6210 20	-0.65144 0.0019 20	0.43159 0.0574 20	0.41047 0.0722 20	-0.36702 0.1114 20
CNF	0.48932 0.0285 20	0.48255 0.0312 20	-0.37766 0.1007 20	1.00000 <.0001 20	-0.27526 0.2401 20	0.02337 0.9221 20	-0.97965 <.0001 20	-0.81909 <.0001 20	-0.16134 0.4968 20
PB	-0.07726 0.7461 20	-0.05299 0.8244 20	-0.11774 0.6210 20	-0.27526 0.2401 20	1.00000 <.0001 20	0.10091 0.6721 20	0.11249 0.6368 20	-0.02620 0.9127 20	-0.12241 0.6072 20
EE	0.51384 0.0205 20	0.54007 0.0140 20	-0.65144 0.0019 20	0.02337 0.9221 20	0.10091 0.6721 20	1.00000 <.0001 20	-0.13917 0.5584 20	-0.22369 0.3431 20	0.31700 0.1733 20
FDN	-0.50752 0.0224 20	-0.50571 0.0229 20	0.43159 0.0574 20	-0.97965 <.0001 20	0.11249 0.6368 20	-0.13917 0.5584 20	1.00000 <.0001 20	0.86986 <.0001 20	0.17787 0.4531 20
FDA	-0.46465 0.0390 20	-0.46499 0.0388 20	0.41047 0.0722 20	-0.81909 <.0001 20	-0.02620 0.9127 20	-0.22369 0.3431 20	0.86986 <.0001 20	1.00000 <.0001 20	0.25889 0.2704 20
Lig	0.25277 0.2823 20	0.27176 0.2464 20	-0.36702 0.1114 20	-0.16134 0.4968 20	-0.12241 0.6072 20	0.31700 0.1733 20	0.17787 0.4531 20	0.25889 0.2704 20	1.00000 20
TAXA_oC_hora	0.28893 0.2166 20	0.29365 0.2089 20	-0.28959 0.2155 20	0.19649 0.4064 20	-0.20537 0.3850 20	0.24775 0.2923 20	-0.19088 0.4202 20	-0.24464 0.2986 20	-0.28299 0.2267 20
temp_2graus	-0.13174 0.6023 18	-0.14215 0.5737 18	0.17556 0.4859 18	0.18684 0.4579 18	-0.01913 0.9400 18	0.00988 0.9690 18	-0.20809 0.4073 18	-0.32784 0.1841 18	-0.21055 0.4017 18

Todos dados - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlação pearson 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure  
 Pearson Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	TAXA_o C_hora	temp_ 2graus	hotmax	tmaxi	RMS	pH	NNH3	Aw	DIVMS
MS	0.28893 0.2166 20	-0.13174 0.6023 18	-0.23777 0.3128 20	0.14413 0.5443 20	0.65111 0.0019 20	0.21035 0.3734 20	-0.74427 0.0002 20	0.00582 0.9806 20	0.66605 0.0013 20
MO	0.29365 0.2089 20	-0.14215 0.5737 18	-0.23905 0.3101 20	0.15465 0.5150 20	0.66387 0.0014 20	0.18019 0.4471 20	-0.74234 0.0002 20	0.00363 0.9879 20	0.67208 0.0012 20
Cin	-0.28959 0.2155 20	0.17556 0.4859 18	0.21841 0.3549 20	-0.20688 0.3815 20	-0.66895 0.0013 20	0.04595 0.8475 20	0.63847 0.0024 20	0.01162 0.9612 20	-0.63063 0.0029 20
CNF	0.19649 0.4064 20	0.18684 0.4579 18	-0.17518 0.4601 20	0.06947 0.7710 20	-0.10880 0.6480 20	0.42066 0.0648 20	-0.25770 0.2727 20	0.17556 0.4591 20	0.54249 0.0135 20
PB	-0.20537 0.3850 20	-0.01913 0.9400 18	0.19319 0.4144 20	-0.03543 0.8821 20	-0.13468 0.5713 20	-0.17767 0.4536 20	-0.43132 0.0576 20	-0.41793 0.0667 20	0.00745 0.9751 20
EE	0.24775 0.2923 20	0.00988 0.9690 18	0.00775 0.9741 20	0.49462 0.0266 20	0.57825 0.0076 20	-0.54618 0.0127 20	-0.31776 0.1722 20	-0.17139 0.4700 20	0.20788 0.3792 20
FDN	-0.19088 0.4202 20	-0.20809 0.4073 18	0.13479 0.5710 20	-0.12961 0.5860 20	0.10736 0.6523 20	-0.33410 0.1500 20	0.33618 0.1473 20	-0.07877 0.7413 20	-0.55453 0.0112 20
FDA	-0.24464 0.2986 20	-0.32784 0.1841 18	0.05418 0.8205 20	-0.37076 0.1076 20	0.09511 0.6900 20	-0.12439 0.6013 20	0.31371 0.1780 20	0.10076 0.6725 20	-0.34811 0.1326 20
Lig	-0.28299 0.2267 20	-0.21055 0.4017 18	0.13789 0.5621 20	-0.25356 0.2807 20	0.47238 0.0355 20	-0.43610 0.0546 20	-0.21505 0.3625 20	0.01072 0.9642 20	-0.04720 0.8434 20
TAXA_oC_hora	1.00000 20	-0.52804 0.0243 18	-0.82027 <.0001 20	0.49456 0.0266 20	0.12573 0.5974 20	0.09817 0.6805 20	0.01807 0.9397 20	0.33835 0.1445 20	0.30934 0.1845 20
temp_2graus	-0.52804 0.0243 18	1.00000 18	0.63499 0.0046 18	0.05690 0.8226 18	-0.28898 0.2448 18	0.08151 0.7478 18	0.26294 0.2918 18	-0.54542 0.0192 18	-0.00647 0.9797 18

Todos dados - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlação pearson 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure

Pearson Correlation Coefficients

Prob > |r| under H0: Rho=0

Number of Observations

	Ac_Latico	Ac_acetico	Ac_Prop	bacterias	fungos	Leveduras
MS	0.56988 0.0087 20	0.35877 0.1203 20	0.55518 0.0111 20	0.02879 0.9041 20	0.17799 0.4528 20	-0.18821 0.4268 20
MO	0.58723 0.0065 20	0.37189 0.1064 20	0.57003 0.0087 20	0.02859 0.9048 20	0.20853 0.3776 20	-0.21369 0.3657 20
Cin	-0.63274 0.0028 20	-0.41513 0.0687 20	-0.60077 0.0051 20	-0.02371 0.9210 20	-0.38969 0.0894 20	0.35994 0.1190 20
CNF	0.10115 0.6713 20	-0.03590 0.8806 20	0.48981 0.0284 20	0.09466 0.6914 20	-0.12272 0.6062 20	-0.24057 0.3069 20
PB	0.30938 0.1844 20	0.27422 0.2420 20	0.05845 0.8066 20	-0.02418 0.9194 20	0.21172 0.3702 20	-0.14701 0.5363 20
EE	0.79751 <.0001 20	0.37119 0.1071 20	0.24812 0.2915 20	0.04311 0.8568 20	0.54277 0.0134 20	-0.25894 0.2703 20
FDN	-0.22821 0.3332 20	-0.03314 0.8897 20	-0.51702 0.0196 20	-0.09940 0.6767 20	0.04852 0.8390 20	0.28383 0.2252 20
FDA	-0.37216 0.1061 20	-0.12849 0.5893 20	-0.61134 0.0042 20	-0.03059 0.8981 20	0.08048 0.7359 20	0.43713 0.0539 20
Lig	0.25543 0.2771 20	0.27982 0.2321 20	-0.16153 0.4963 20	-0.05181 0.8283 20	0.63380 0.0027 20	-0.04091 0.8640 20
TAXA_oC_hora	0.06758 0.7771 20	-0.37126 0.1070 20	0.16497 0.4870 20	0.39591 0.0840 20	-0.25609 0.2758 20	0.18665 0.4307 20
temp_2graus	0.11138 0.6599 18	0.42630 0.0777 18	0.37936 0.1205 18	-0.14488 0.5663 18	-0.14274 0.5720 18	-0.42500 0.0787 18

Todos dados - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlação pearson 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure  
 Pearson Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	MS	MO	Cin	CNF	PB	EE	FDN	FDA	Lig
hotmax	-0.23777	-0.23905	0.21841	-0.17518	0.19319	0.00775	0.13479	0.05418	0.13789
	0.3128	0.3101	0.3549	0.4601	0.4144	0.9741	0.5710	0.8205	0.5621
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
tmaxi	0.14413	0.15465	-0.20688	0.06947	-0.03543	0.49462	-0.12961	-0.37076	-0.25356
	0.5443	0.5150	0.3815	0.7710	0.8821	0.0266	0.5860	0.1076	0.2807
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
RMS	0.65111	0.66387	-0.66895	-0.10880	-0.13468	0.57825	0.10736	0.09511	0.47238
	0.0019	0.0014	0.0013	0.6480	0.5713	0.0076	0.6523	0.6900	0.0355
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
pH	0.21035	0.18019	0.04595	0.42066	-0.17767	-0.54618	-0.33410	-0.12439	-0.43610
	0.3734	0.4471	0.8475	0.0648	0.4536	0.0127	0.1500	0.6013	0.0546
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
NNH3	-0.74427	-0.74234	0.63847	-0.25770	-0.43132	-0.31776	0.33618	0.31371	-0.21505
	0.0002	0.0002	0.0024	0.2727	0.0576	0.1722	0.1473	0.1780	0.3625
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Aw	0.00582	0.00363	0.01162	0.17556	-0.41793	-0.17139	-0.07877	0.10076	0.01072
	0.9806	0.9879	0.9612	0.4591	0.0667	0.4700	0.7413	0.6725	0.9642
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
DIVMS	0.66605	0.67208	-0.63063	0.54249	0.00745	0.20788	-0.55453	-0.34811	-0.04720
	0.0013	0.0012	0.0029	0.0135	0.9751	0.3792	0.0112	0.1326	0.8434
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Ac_Latico	0.56988	0.58723	-0.63274	0.10115	0.30938	0.79751	-0.22821	-0.37216	0.25543
	0.0087	0.0065	0.0028	0.6713	0.1844	<.0001	0.3332	0.1061	0.2771
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Ac_acetico	0.35877	0.37189	-0.41513	-0.03590	0.27422	0.37119	-0.03314	-0.12849	0.27982
	0.1203	0.1064	0.0687	0.8806	0.2420	0.1071	0.8897	0.5893	0.2321
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Ac_Prop	0.55518	0.57003	-0.60077	0.48981	0.05845	0.24812	-0.51702	-0.61134	-0.16153
	0.0111	0.0087	0.0051	0.0284	0.8066	0.2915	0.0196	0.0042	0.4963
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
bacterias	0.02879	0.02859	-0.02371	0.09466	-0.02418	0.04311	-0.09940	-0.03059	-0.05181
	0.9041	0.9048	0.9210	0.6914	0.9194	0.8568	0.6767	0.8981	0.8283
	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Todos dados2 - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AG02015  
 correlação pearson 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure  
 Pearson Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	TAXA_o C_hora	temp_ 2graus	hotmax	tmaxi	RMS	pH	NNH3	Aw	DIVMS
hotmax	-0.82027 <.0001 20	0.63499 0.0046 18	1.00000  20	0.08339 0.7267 20	-0.07979 0.7381 20	-0.33400 0.1501 20	0.01979 0.9340 20	-0.42410 0.0624 20	-0.31266 0.1795 20
tmaxi	0.49456 0.0266 20	0.05690 0.8226 18	0.08339 0.7267 20	1.00000  20	0.10275 0.6664 20	-0.39366 0.0859 20	0.06774 0.7766 20	-0.05225 0.8268 20	0.02487 0.9171 20
RMS	0.12573 0.5974 20	-0.28898 0.2448 18	-0.07979 0.7381 20	0.10275 0.6664 20	1.00000  20	-0.18967 0.4232 20	-0.46576 0.0385 20	0.02439 0.9187 20	0.26728 0.2546 20
pH	0.09817 0.6805 20	0.08151 0.7478 18	-0.33400 0.1501 20	-0.39366 0.0859 20	-0.18967 0.4232 20	1.00000  20	-0.16450 0.4883 20	0.08865 0.7102 20	0.46485 0.0389 20
NNH3	0.01807 0.9397 20	0.26294 0.2918 18	0.01979 0.9340 20	0.06774 0.7766 20	-0.46576 0.0385 20	-0.16450 0.4883 20	1.00000  20	0.11945 0.6159 20	-0.44469 0.0495 20
Aw	0.33835 0.1445 20	-0.54542 0.0192 18	-0.42410 0.0624 20	-0.05225 0.8268 20	0.02439 0.9187 20	0.08865 0.7102 20	0.11945 0.6159 20	1.00000  20	0.01321 0.9559 20
DIVMS	0.30934 0.1845 20	-0.00647 0.9797 18	-0.31266 0.1795 20	0.02487 0.9171 20	0.26728 0.2546 20	0.46485 0.0389 20	-0.44469 0.0495 20	0.01321 0.9559 20	1.00000  20
Ac_Latico	0.06758 0.7771 20	0.11138 0.6599 18	0.21106 0.3717 20	0.50253 0.0239 20	0.51633 0.0198 20	-0.41764 0.0669 20	-0.51190 0.0210 20	-0.28679 0.2202 20	0.28771 0.2187 20
Ac_acetico	-0.37126 0.1070 20	0.42630 0.0777 18	0.57432 0.0081 20	0.22592 0.3382 20	0.49472 0.0266 20	-0.20768 0.3796 20	-0.41420 0.0694 20	-0.57683 0.0078 20	0.19406 0.4123 20
Ac_Prop	0.16497 0.4870 20	0.37936 0.1205 18	-0.04608 0.8470 20	0.26545 0.2580 20	0.16840 0.4779 20	0.15226 0.5216 20	-0.21764 0.3567 20	-0.25567 0.2766 20	0.48353 0.0308 20
bacterias	0.39591 0.0840 20	-0.14488 0.5663 18	-0.41497 0.0689 20	0.03716 0.8764 20	-0.17428 0.4624 20	0.05714 0.8109 20	-0.05793 0.8083 20	0.10212 0.6684 20	0.27017 0.2493 20

Todos dados- Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlação pearson 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure

Pearson Correlation Coefficients

Prob > |r| under H0: Rho=0

Number of Observations

	Ac_Latico	Ac_acetico	Ac_Prop	bacterias	fungos	Leveduras
hotmax	0.21106 0.3717 20	0.57432 0.0081 20	-0.04608 0.8470 20	-0.41497 0.0689 20	0.19261 0.4159 20	-0.45835 0.0421 20
tmaxi	0.50253 0.0239 20	0.22592 0.3382 20	0.26545 0.2580 20	0.03716 0.8764 20	-0.12278 0.6061 20	-0.41549 0.0685 20
RMS	0.51633 0.0198 20	0.49472 0.0266 20	0.16840 0.4779 20	-0.17428 0.4624 20	0.44914 0.0470 20	-0.12519 0.5990 20
pH	-0.41764 0.0669 20	-0.20768 0.3796 20	0.15226 0.5216 20	0.05714 0.8109 20	-0.58703 0.0065 20	0.20252 0.3918 20
NNH3	-0.51190 0.0210 20	-0.41420 0.0694 20	-0.21764 0.3567 20	-0.05793 0.8083 20	-0.23340 0.3220 20	0.18369 0.4382 20
Aw	-0.28679 0.2202 20	-0.57683 0.0078 20	-0.25567 0.2766 20	0.10212 0.6684 20	0.06625 0.7814 20	0.09200 0.6997 20
DIVMS	0.28771 0.2187 20	0.19406 0.4123 20	0.48353 0.0308 20	0.27017 0.2493 20	0.05883 0.8054 20	-0.11146 0.6399 20
Ac_Latico	1.00000 20	0.67231 0.0012 20	0.39429 0.0854 20	-0.13459 0.5716 20	0.44616 0.0486 20	-0.41086 0.0719 20
Ac_acetico	0.67231 0.0012 20	1.00000 20	0.32291 0.1649 20	-0.33721 0.1460 20	0.27894 0.2337 20	-0.37590 0.1024 20
Ac_Prop	0.39429 0.0854 20	0.32291 0.1649 20	1.00000 20	-0.10662 0.6546 20	-0.16984 0.4741 20	-0.37169 0.1066 20
bacterias	-0.13459 0.5716 20	-0.33721 0.1460 20	-0.10662 0.6546 20	1.00000 20	-0.14158 0.5516 20	0.01161 0.9613 20

Todos dados - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlacao pearson 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure  
 Pearson Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	MS	MO	Cin	CNF	PB	EE	FDN	FDA	Lig
fungos	0.17799	0.20853	-0.38969	-0.12272	0.21172	0.54277	0.04852	0.08048	0.63380
	0.4528	0.3776	0.0894	0.6062	0.3702	0.0134	0.8390	0.7359	0.0027
	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Leveduras	-0.18821	-0.21369	0.35994	-0.24057	-0.14701	-0.25894	0.28383	0.43713	-0.04091
	0.4268	0.3657	0.1190	0.3069	0.5363	0.2703	0.2252	0.0539	0.8640
	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Pearson Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	TAXA_o C_hora	temp_ 2graus	hotmax	tmaxi	RMS	pH	NNH3	Aw	DIVMS
fungos	-0.25609	-0.14274	0.19261	-0.12278	0.44914	-0.58703	-0.23340	0.06625	0.05883
	0.2758	0.5720	0.4159	0.6061	0.0470	0.0065	0.3220	0.7814	0.8054
	20	18	20	20	20	20	20	20	20
Leveduras	0.18665	-0.42500	-0.45835	-0.41549	-0.12519	0.20252	0.18369	0.09200	-0.11146
	0.4307	0.0787	0.0421	0.0685	0.5990	0.3918	0.4382	0.6997	0.6399
	20	18	20	20	20	20	20	20	20

Pearson Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	Ac_latico	Ac_acetico	Ac_Prop	bacterias	fungos	Leveduras
fungos	0.44616	0.27894	-0.16984	-0.14158	1.00000	-0.12369
	0.0486	0.2337	0.4741	0.5516		0.6034
	20	20	20	20	20	20
Leveduras	-0.41086	-0.37590	-0.37169	0.01161	-0.12369	1.00000
	0.0719	0.1024	0.1066	0.9613	0.6034	
	20	20	20	20	20	20

Todos dados- Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlaçao spearman 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure

4 With Variables: bacterias fungos Leveduras Trat  
 25 Variables: MS MO Cin CNF PB EE  
 FDN FDA Lig TAXA\_oC\_hora temp\_2graus hotmax  
 tmaxi RMS pH NNH3 Aw DIVMS  
 Ac\_Latico Ac\_acetico Ac\_Prop bacterias fungos Leveduras  
 Trat

Simple Statistics

Variable	N	Mean	Std Dev	Median	Minimum	Maximum
bacterias	20	3452930	13731534	41500	2000	61500000
fungos	20	219610	402918	1000	100.00000	1000000
Leveduras	20	15440	35945	4050	500.00000	153000
Trat	20	21.00000	18.20931	18.00000	0	48.00000
MS	20	38.15378	1.74088	38.12055	32.75550	40.92470
MO	20	34.81125	1.96665	34.78690	28.63850	37.91310
Cin	20	3.34253	0.25725	3.31330	2.99690	4.11700
CNF	20	45.58096	2.84910	46.49355	36.92940	49.19720
PB	20	7.15593	0.46164	7.04645	6.37680	8.05960
EE	20	4.01586	0.42736	3.92000	3.47000	5.24000
FDN	20	41.32920	2.76105	40.76895	38.25990	49.84630
FDA	20	21.51473	1.56618	21.46375	18.53100	25.00400
Lig	20	1.00252	0.18503	0.99890	0.73880	1.34330
TAXA_oC_hora	20	0.26091	0.02832	0.25495	0.22560	0.33590
temp_2graus	18	72.55556	26.21006	70.00000	28.00000	138.00000
hotmax	20	147.80000	13.07307	152.00000	116.00000	164.00000
tmaxi	20	38.27500	2.27385	38.25000	33.00000	43.00000
RMS	20	99.28900	6.16817	100.80500	87.26000	110.91000
pH	20	3.63750	0.02712	3.64000	3.58000	3.68000
NNH3	20	1.17650	0.14367	1.14300	1.01070	1.65380
Aw	20	0.94010	0.00755	0.93950	0.92700	0.95700
DIVMS	20	66.11961	1.81144	66.59510	62.46940	68.12150
Ac_Latico	20	9.09953	1.19154	8.87202	6.95315	11.48252
Ac_acetico	20	1.67808	0.28929	1.67251	1.18204	2.16716
Ac_Prop	20	0.43111	0.10386	0.45020	0.20287	0.60554

Todos dados - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlaçao spearman 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure

Spearman Correlation Coefficients

Prob > |r| under H0: Rho=0

Number of Observations

	MS	MO	Cin	CNF	PB	EE	FDN	FDA	Lig
bacterias	0.08271 0.7289 20	0.09023 0.7052 20	-0.00451 0.9849 20	-0.35789 0.1213 20	0.17444 0.4620 20	0.02556 0.9148 20	0.29624 0.2047 20	0.07218 0.7623 20	0.00752 0.9749 20
fungos	0.09417 0.6929 20	0.09571 0.6881 20	-0.24391 0.3001 20	-0.23388 0.3210 20	0.11964 0.6154 20	0.11578 0.6269 20	0.26861 0.2522 20	0.23156 0.3259 20	0.76184 <.0001 20
Leveduras	-0.46559 0.0386 20	-0.48289 0.0310 20	0.53328 0.0155 20	-0.37307 0.1052 20	0.06544 0.7840 20	-0.38059 0.0978 20	0.47010 0.0365 20	0.65739 0.0016 20	0.14442 0.5435 20
Trat	0.45758 0.0425 20	0.39554 0.0843 20	-0.13960 0.5572 20	0.16287 0.4927 20	0.00000 1.0000 20	0.20940 0.3756 20	-0.21716 0.3577 20	-0.06205 0.7950 20	-0.10082 0.6723 20

Spearman Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	TAXA_o C_hora	temp_ 2graus	hotmax	tmaxi	RMS	pH	NNH3	Aw	DIVMS
<i>bacterias</i>	0.39383 0.0858 20	-0.55274 0.0174 18	-0.38568 0.0931 20	0.09184 0.7002 20	0.09323 0.6958 20	-0.20937 0.3757 20	-0.07970 0.7384 20	0.00452 0.9849 20	0.04361 0.8551 20
<i>fungos</i>	-0.36410 0.1145 20	-0.17715 0.4819 18	0.27225 0.2455 20	-0.10130 0.6709 20	0.19374 0.4131 20	-0.50059 0.0246 20	-0.41604 0.0681 20	0.01353 0.9549 20	-0.25240 0.2830 20
<i>Leveduras</i>	-0.25800 0.2721 20	-0.04834 0.8489 18	0.24701 0.2938 20	-0.25703 0.2740 20	-0.22715 0.3355 20	-0.26912 0.2512 20	0.15344 0.5184 20	0.21469 0.3634 20	-0.56788 0.0090 20
<i>Trat</i>	-0.05826 0.8073 20	0.18934 0.4518 18	0.13124 0.5813 20	-0.15659 0.5097 20	0.07756 0.7452 20	0.44463 0.0495 20	-0.30247 0.1949 20	-0.07767 0.7448 20	0.49636 0.0260 20

Todos dados - Eduardo - Zoo Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 12AGO2015  
 correlaçao spearman 16:02 Saturday, August 12, 2000

The CORR Procedure  
 Spearman Correlation Coefficients  
 Prob > |r| under H0: Rho=0  
 Number of Observations

	Ac_Latico	Ac_acetico	Ac_Prop	<i>bacterias</i>	<i>fungos</i>	<i>Leveduras</i>	<i>Trat</i>
<i>bacterias</i>	-0.12932 0.5869 20	-0.21955 0.3523 20	-0.22556 0.3390 20	1.00000 20	-0.14202 0.5503 20	-0.06243 0.7937 20	-0.15511 0.5138 20
<i>fungos</i>	0.28328 0.2262 20	0.19451 0.4112 20	-0.36046 0.1185 20	-0.14202 0.5503 20	1.00000 20	0.09536 0.6892 20	-0.26274 0.2631 20
<i>Leveduras</i>	-0.41595 0.0681 20	-0.12636 0.5955 20	-0.49191 0.0276 20	-0.06243 0.7937 20	0.09536 0.6892 20	1.00000 20	-0.13578 0.5682 20
<i>Trat</i>	-0.00776 0.9741 20	0.06205 0.7950 20	0.27145 0.2470 20	-0.15511 0.5138 20	-0.26274 0.2631 20	-0.13578 0.5682 20	1.00000 20