

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

**QUALIDADE DAS SILAGENS DE SORGO REENSILADAS COM E SEM  
INOCULANTE MICROBIANO**

**PEDRO HENRIQUE FULGÊNCIO MICHEL**

**BELO HORIZONTE  
2015**

Pedro Henrique Fulgêncio Michel

**QUALIDADE DAS SILAGENS DE SORGO REENSILADAS COM E SEM  
INOCULANTE MICROBIANO**

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

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientador: Prof. Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária da UFMG  
2015

M623q Michel, Pedro Henrique Fulgêncio, 1991-  
Qualidade das silagens de sorgo reensiladas com e sem inoculante microbiano / Pedro Henrique Fulgêncio Michel. – 2015.  
62 p. : il.

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

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

CDD – 633.2

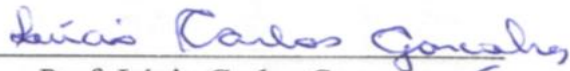
Tese defendida e aprovada em 14 de julho de 2015.

Comissão examinadora:



---

Prof. Diogo Gonzaga Jayme  
Orientador



---

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves



---

José Avelino dos Santos Rodrigues

**“Eu NÃO VOU desistir, eu NÃO VOU me cansar, EU VOU continuar, eu VOU EM frente, eu NÃO VOU me entregar até a última lágrima.”**

**(Rogério Feltrin - Rosa de Saron)**

## **Agradecimentos**

A Deus pelo Dom da Vida e pela força;

Ao professor Diogo, pela acolhida, apoio e aprendizado;

Ao professor Lúcio pelos diversos ensinamentos;

À professora Kelly e sua equipe pela enorme contribuição na parte da microbiologia;

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

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

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

À minha namorada Adriana pelo amor e companheirismo;

Ao Darley e à Tânia pela acolhida no início desse curso de mestrado;

Aos amigos Eduardo, Vinícius e João Pedro (Pataxó) por todo apoio nesta etapa final da disciplina de nutrição, na mudança de nível e na defesa desta dissertação;

À Fabiana pelo suporte no laboratório de microbiologia;

À professora Ana Luiza e ao professor Ricardo que foram compreensivos durante o final do semestre na disciplina de nutrição de ruminantes;

À CAPES pela apoio financeiro;

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Toninho e Fabiana;

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

---

## SUMÁRIO

---

### CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Estacionalidade de produção de volumoso e a ensilagem.....	13
2.2 O sorgo e suas características.....	13
2.3 Valor nutritivo, qualidade da fermentação e perdas de matéria seca.....	15
2.4 Estabilidade aeróbia e microrganismos envolvidos.....	17
2.5 Inoculantes microbianos utilizados em silagens.....	19
3 REFERÊNCIAS.....	21

### CAPÍTULO II – Artigo

#### QUALIDADE DE SILAGENS DE SORGO REENSILADAS COM E SEM INOCULANTE MICROBIANO

RESUMO.....	29
INTRODUÇÃO.....	30
MATERIAL E MÉTODOS.....	31
Plantio, colheita e ensilagem.....	31
Tratamentos.....	31
Silos experimentais e análises de perdas.....	33
Análises dos parâmetros fermentativos.....	36
Análises bromatológicas e de digestibilidade <i>in vitro</i> .....	36
Contagem de microrganismos.....	37
Estabilidade aeróbia.....	38
Análise estatística.....	38
RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO I – Coeficiente de correlação de Pearson.....	56

---

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1</b> - Temperatura e umidade relativa do ar em durante a exposição aeróbia.....	33
<b>Tabela 2</b> - Composição bromatológica da forragem fresca.....	39
<b>Tabela 3</b> - Perdas por gases, por efluentes e perdas totais de matéria seca de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	40
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros de qualidade da fermentação de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	41
<b>Tabela 5</b> - Composição bromatológica de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	42
<b>Tabela 6</b> - Contagem de microrganismos em silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	43
<b>Tabela 7</b> - Estabilidade aeróbia e contagem de microrganismos no momento da perda da estabilidade aeróbia de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas.....	44

---



---

## LISTA DE FIGURAS

---

**Figura 1** - Mecanismo de ação dos ácidos na célula microbiana.....20

**Figura 2**- Variação do pH em função dos dias de exposição ao ar no decorrer da avaliação da estabilidade aeróbia.....45

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

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

---

## RESUMO

A ensilagem é o principal método de conservação de forrageiras utilizado no Brasil. Dentre as plantas utilizadas, o sorgo se destaca por apresentar maior tolerância ao déficit hídrico, alta produtividade de forragem e possibilidade de utilização da rebrota. Quando se trata de silagens, a entrada de oxigênio no silo após a abertura é prejudicial, pois favorece o crescimento de leveduras e fungos. Esses microrganismos degradam os carboidratos solúveis e o ácido lático com produção de calor e aumento de pH. A fim de melhorar o processo fermentativo e evitar a degradação aeróbia, vários inoculantes têm sido utilizados. No entanto, trabalhos com esses produtos em silagens que foram reensiladas ainda são escassos. Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante microbiano na qualidade de silagens de sorgo. O híbrido de sorgo BRS 655 foi colhido e ensilado com adição ou não do inoculante contendo *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* no momento da ensilagem. Após 56 dias da ensilagem o tratamento reensilagem foi imposto de forma que o material foi desensilado e reensilado após 24 horas de exposição ao ar. As perdas por gases, efluentes e as totais de matéria seca não foram alteradas pelo inoculante. Resultados semelhantes foram obtidos para as perdas por gases e total de matéria seca em função da reensilagem. Já a perda por efluentes foi significativamente maior nas silagens reensiladas. Os parâmetros de qualidade da silagem e a composição bromatológica não foram alterados pelo inoculante e pela reensilagem. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca não foi favorecida pelo inoculante, porém foi maior para as silagens que não foram reensiladas. A contagem de microrganismos na abertura dos silos não sofreu alteração pelo uso do inoculante e da reensilagem. A estabilidade aeróbia não alterou em função do uso do inoculante, no entanto, as silagens reensiladas ficaram estáveis por maior tempo. O número de microrganismos na perda da estabilidade aeróbia não foi influenciado pela utilização do inoculante e da reensilagem. A reensilagem de sorgo após 24 horas de exposição ao ar não alterou a qualidade da silagem. Porém, promoveu maior perda por efluentes e menor digestibilidade *in vitro* da matéria seca. A utilização do inoculante não melhorou a qualidade de silagem de sorgo.

**Palavras-chave:** *Propionibacterium acidipropionici*, estabilidade aeróbia, leveduras, fungos.

## ABSTRACT

The silage is the main forage conservation method used in the Brazil. Among the plants used, the sorghum stands out mainly due its significant water deficit tolerance, high forage productivity and possibility of using regrowth. The oxygen entry in the silo after opening is harmful to forage conservation because it favors yeasts and molds growth. These microbes degrade soluble carbohydrates and lactic acid producing heat and increasing pH. In order to improve the fermentative process and avoid aerobic degradation, several inoculants have been used. However, studies with these products in re-ensiled silages are still scarce. This study aimed to determine the effect of re-ensiling and the use of microbial inoculants on the quality of sorghum silage. The sorghum hybrid BRS 655 was harvested and ensiled with or without an inoculant containing *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* at the ensiling time. After 56 days of the ensiling, the treatment “re-ensiling” was deployed so that the material was removed e re-ensiled after 24 hours of exposure to air. Gases and effluents losses and total dry matter were not changed by the inoculant. Similar results were obtained for the gases and total dry matter losses at re-ensiling process. However, the effluents losses were higher in the re-ensiled silages. The inoculant use and re-ensiling process did not affect the fermentation parameters, chemical composition and microbial count in the silo opening. The *in vitro* digestibility of dry matter was not favored by inoculant, but was higher to the silages which were not re-ensiled. The aerobic stability was not altered by inoculants use, however, the re-ensiled silages remained stable for longer time. The microbial count at the loss aerobic stability time was not influenced by the inoculants and re-ensiling. The re-ensiling of sorghum silage after 24 hours of exposure to air did not change the silage quality, but increased the effluents losses and reduced the *in vitro* dry matter digestibility. The inoculants use did not influence the sorghum silage quality.

**Palavras-chave:** *Propionibacterium acidipropionici*, aerobic stability, yeasts, molds.

## CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

### 1 INTRODUÇÃO

A ensilagem é o principal método de conservação de volumoso utilizado no Brasil. Sabe-se que o milho é a principal forrageira utilizada para o processo seguido pelo sorgo. O sorgo apresenta maior tolerância ao déficit hídrico, alta produtividade de forragem, além de apresentar o rebrote. O cultivo se dá principalmente em locais onde o zoneamento agrícola é desfavorável ao milho. Nos últimos anos tem crescido o interesse no cultivo do sorgo em algumas regiões do Brasil em função da falta das chuvas durante o próprio período chuvoso.

A instabilidade climática aliada aos erros no planejamento alimentar e no processo de ensilagem tem gerado a necessidade de aquisição de silagens de outras propriedades e a “reensilagem” desse material na fazenda. O valor nutritivo das silagens obtidas dessa maneira pode ficar comprometido por perdas além das ocorridas durante o processo fermentativo devido à exposição dessas silagens ao ar.

A entrada de oxigênio dentro do silo após abertura é prejudicial à qualidade da silagem, pois favorece o crescimento de microrganismos que podem degradar alguns nutrientes com produção de calor, aumento de temperatura e pH (Filya et al., 2006). Dessa forma, provoca perdas indesejáveis como a oxidação dos carboidratos solúveis, o aumento da proporção de parede celular e a degradação do ácido lático produzido na fermentação (Velho et al., 2006).

Com o propósito de melhorar a eficiência da fermentação anaeróbia bem como a estabilidade aeróbia, vários tipos de inoculantes bacterianos têm sido disponibilizados no mercado. São encontradas principalmente bactérias homofermentativas produtoras de ácido lático que atuam na rápida queda do pH e, em tese, melhoram a fermentação. No entanto, a atividade desse ácido em inibir microrganismos que provocam a deterioração aeróbia é baixa. Para solucionar esse problema, outras bactérias, como as propiônicas, têm sido adicionadas aos inoculantes em conjunto com as bactérias lácticas homofermentativas. Isso porque o ácido propiônico é efetivo no controle de microrganismos que promovem a deterioração aeróbia (Zhang et al., 2010).

A utilização de inoculantes em silagens reensiladas pode ser benéfica e informações a respeito ainda são escassas no Brasil. Tendo em vista o constante uso da técnica de reensilagem e o provável efeito positivo do uso de inoculantes para melhorar a fermentação, a estabilidade aeróbia e o valor nutricional, mais informações são necessárias para viabilizar a sua indicação para esse tipo de técnica.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Estacionalidade de produção de volumoso e a ensilagem**

Na maior parte do Brasil os sistemas de produção animal se deparam com dois períodos bem distintos. O período de primavera/verão marcado por temperaturas mais elevadas, dias longos e chuvosos. E o período de outono/inverno geralmente caracterizado por escassez de chuvas associada às baixas temperaturas e dias curtos. Esta condição promove oscilação na quantidade e qualidade das pastagens formadas por gramíneas tropicais. Como consequência, ocorre variação na oferta de nutrientes para atender aos requerimentos de manutenção, crescimento, produção e, principalmente reprodução (Pires et al., 2013). Esse cenário caracteriza a baixa produtividade dos rebanhos de corte e leite com reflexos negativos na rentabilidade e sustentabilidade dos sistemas.

Conferir regularidade na oferta de alimento volumoso com qualidade ao longo do ano aos sistemas de criação baseados em pastagens bem como atender a demanda de volumosos em sistemas intensivos de produção leiteira são fundamentais para o sucesso dessa atividade. Para tal, o emprego de estratégias de conservação do excesso de forragem produzida na época climática favorável ao crescimento das forrageiras é fundamental (Cabral et al., 2002).

Diante disso, a ensilagem surge como medida para solucionar os efeitos estacionais na produção de alimentos. Consiste no processo pelo qual a conservação do volumoso é baseada na queda de pH. Esta, por sua vez, ocorre pela conversão de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos pela ação de microrganismos anaeróbios (McDonald et al., 1991). O objetivo é conservar o maior percentual de nutrientes da forragem original. Segundo Bernardes e Rêgo (2014), a ensilagem é o principal método de conservação de forragens utilizado atualmente no país.

Em geral recomenda-se que a forrageira utilizada na produção de silagens apresente elevado rendimento de matéria seca por unidade de área, bom valor nutritivo, alto teor de carboidratos solúveis e baixa capacidade tampão. Nesse contexto, milho e sorgo são as forrageiras de destaque.

### **2.2 O sorgo e suas características**

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma gramínea tropical, de dias curtos e metabolismo tipo C4 o que propicia a capacidade de suportar elevados níveis de radiação solar com resposta em alta taxa fotossintética e menor fotorrespiração (Landau; Sans, 2012).

Ainda segundo esses autores, pode ser cultivado numa ampla faixa de temperatura sendo o desenvolvimento da maioria das cultivares limitado em temperaturas superiores a 38°C ou inferiores a 16°C. Para o bom crescimento e desenvolvimento, em regra, temperaturas superiores a 21°C são necessárias (Magalhães et al., 2003).

A planta de sorgo se destaca pela resistência ao déficit hídrico de forma que consegue se recuperar e produzir grãos, pois paralisa seu desenvolvimento em espera de condições favoráveis de precipitação (Waquil et al., 2003). Esta capacidade é reforçada pela presença de um sistema radicular abundante e profundo e pela menor desidratação propiciada por algumas características como a presença de cerosidade e ausência de pilosidades (Botelho et al., 2010). Para completar o ciclo, o requerimento pluviométrico da cultura se situa entre 380 e 600 milímetros (Sans et al., 2012).

É uma cultura tolerante a diversas condições de solo de forma que pode ser implantada satisfatoriamente em solos que variam de argilosos a ligeiramente arenosos. Tem preferência por solos bem preparados, com acidez corrigida e ricos em matéria orgânica. Não tolera solos mal drenados e sobrevive melhor que outros cereais em solos arenosos e de baixa fertilidade (Landau; Sans, 2012).

As características agronômicas citadas permitem cultivar o sorgo em condições semiáridas onde o zoneamento agrícola é desfavorável ao cultivo de milho (Machado et al., 2014; Teixeira et al., 2014). Outro aspecto relevante consiste no menor custo de produção, equivalente 80 a 85% do custo da silagem de milho e na possibilidade de se cultivar a rebrota em função da conservação do sistema radicular intacto (Rodrigues, 2007).

Na alimentação animal o sorgo pode ser utilizado na forma de pastejo direto, corte verde, feno, grãos e silagem, sendo esta última a principal forma utilizada na alimentação de ruminantes (Botelho et al., 2010). O uso para essa finalidade iniciou-se com a utilização de variedades de porte alto caracterizadas por alta produtividade de massa verde por hectare. Porém, com o passar do tempo e a intensificação dos sistemas de produção surgiu a exigência de materiais de melhor qualidade nutricional (Souza et al., 2003).

A altura da planta de sorgo correlaciona-se com a produtividade e com as diferenças nas proporções de folhas, colmo e panícula. Estas duas últimas são estreitamente relacionadas com qualidade da silagem a ser obtida. Sorgo de porte alto caracteriza-se pela alta produção de massa por hectare com menor participação da panícula e maior de colmo na planta inteira. As variedades de porte baixo e médio geralmente apresentam menor produção, maior

participação da panícula e menor de colmo na planta inteira o que propicia uma silagem de melhor valor nutricional.

### **2.3 Valor nutritivo, qualidade da fermentação e perdas de matéria seca**

Dentre as análises de avaliação do valor nutritivo de silagens, a composição química em termos do teor de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e componentes fibrosos (Fibra insolúvel em detergente neutro – FDN – e Fibra insolúvel em detergente ácido - FDA) são fundamentais para avaliação da qualidade dos alimentos e formulação de dietas.

O teor de proteína geralmente é relacionado com melhor valor nutritivo pela possibilidade de reduzir os custos com concentrado proteico. O teor dos componentes fibrosos é inversamente correlacionado com o valor nutritivo. O conteúdo de FDN relaciona-se a redução no consumo enquanto a FDA e a lignina à redução da digestibilidade (Van Soest, 1994). As silagens de sorgo geralmente apresentam maior proporção de constituintes de parede celular e menor valor energético que as silagens de milho. Porém, vale ressaltar que híbridos modernos de sorgo produzem silagem com valor nutricional equivalente a 85-92% ao da silagem de milho (Faria Júnior et al., 2009).

A composição química das silagens de sorgo pode variar em função das épocas de cultivo, momento de colheita, região e manejo de ensilagem. Faria Júnior et al. (2009) relataram teores de proteína bruta que variaram de 4,9 a 9,8%, valores de FDN de 42,4 a 70,3%, FDA de 24,2 a 45,1% e lignina de 3,0 a 9,5% da MS.

Para a conservação do bom valor nutritivo da forrageira, é necessário eficiência e qualidade do processo fermentativo (Macedo et al., 2012). Entre os principais parâmetros utilizados para avaliar a qualidade do processo fermentativo estão o teor de MS, pH, conteúdo de nitrogênio (N) amoniacal como proporção do N total e ácidos orgânicos (Tomich et al., 2003). O teor de matéria seca, além de ser importante componente nutricional, é um dos principais fatores que afetam a fermentação durante o processo de ensilagem. Exerce grande influência na eficiência de compactação, logo, no tipo de fermentação e na qualidade final da silagem produzida. O teor de MS baixo no momento da confecção ocasiona compactação excessiva, fermentação butírica, maior resistência à redução de pH e lixiviação de nutrientes. Em contrapartida, elevado teor de matéria seca dificulta a compactação o que impede a saída completa de oxigênio e propicia o crescimento de leveduras e fungos. Esses microrganismos irão consumir os carboidratos solúveis gerando calor. Segundo McDonald et al. (1991), os teores ideais de matéria seca para obtenção de silagens de boa qualidade estão entre 30e 35%.



A rápida queda do pH promove a diminuição da atividade de degradação mediadas por enzimas da própria planta e cessa o crescimento de microrganismos anaeróbios indesejáveis como enterobactérias e clostrídios (McDonald et al., 1991; Pires et al., 2006; Pires et al., 2013; Tomich et al., 2003). O valor adequado de pH para promover conservação eficiente depende do conteúdo de água da forrageira fresca (Tomich et al., 2003). Em forrageiras com baixo teor de matéria seca são necessários valores mais baixos de pH para inibir fermentações indesejáveis como as promovidas por clostrídios. Já em plantas ensiladas com teor de matéria seca acima de 35% o pH mais elevado ainda pode ser suficiente para adequada conservação (Pires et al., 2006; McDonald et al., 1991). De modo geral, as silagens de sorgo apresentam valores de pH em patamares desejáveis já nas primeiras 24 horas de fermentação (Faria Júnior et al., 2009). Os valores para silagens bem conservadas variam entre 3,6 e 4,2 (McDonald et al., 1991; Tomich et al., 2003).

A formação de amônia no silo ocorre principalmente pela degradação de proteínas promovida pela fermentação clostridiana. O nitrogênio amoniacal, expresso em % N-Total, indica a quantidade de proteína degradada durante a fase de fermentação (McDonald et al., 1991; Tomich et al., 2003; Pires et al., 2013). Silagens bem conservadas apresentam menos de 10% de nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total. Altos teores de nitrogênio amoniacal são encontrados geralmente em silagens com baixo teor de matéria seca (McDonald et al., 1991; Tomich et al., 2003).

A determinação dos ácidos orgânicos é essencial para avaliação da qualidade da fermentação. Os ácidos frequentemente utilizados são o lático, o acético e o butírico (Tomich et al., 2003). O ácido lático tem o papel mais importante na conservação das silagens por ser o responsável pela queda do pH. Isso porque esse ácido consegue se dissipar facilmente pela massa ensilada em virtude da maior constante de dissociação que apresenta (McDonald et al., 1991; Pires et al., 2013). O teor de ácido acético produzido por enterobactérias, algumas bactérias lácticas e em menor proporção por clostrídios é correlacionado com a dificuldade na queda de pH. O conteúdo de ácido butírico é um dos principais indicadores negativos e reflete a atividade clostridiana sobre a massa ensilada. Está associado à dificuldade na queda de pH e com redução no consumo. De maneira geral, quando o processo fermentativo ocorre de forma eficiente são observados valores de ácido lático próximos de 8-12%, de ácido acético inferiores a 2,5% e de ácido butírico inferiores a 0,3% da MS (McDonald et al., 1991; Tomich et al., 2003).

Durante o processo de ensilagem, perdas de matéria seca principalmente por constituintes nutritivos mais digestíveis ocorrem desde a colheita até a abertura dos silos para fornecimento aos animais. Na colheita ocorrem perdas pela respiração da planta, na fermentação por produção de gases e efluentes (Junges et al., 2013) e após a abertura dos silos pela penetração de oxigênio na massa ensilada. Pesquisas com silagens de sorgo respaldam elevação na perda de matéria seca por fermentação e respiração em com o avançar da exposição ao ar nos tempos de zero, sete e 14 dias de exposição (Tabacco et al., 2011). Nesse sentido, silagens reensiladas podem sofrer elevadas perdas com acentuada queda no valor nutritivo visto que o material será “desensilado”, transportado e “reensilado”.

#### **2.4 Estabilidade aeróbia e microrganismos envolvidos**

A anaerobiose é fundamental para a qualidade das silagens. A entrada de oxigênio no silo após sua abertura para fornecimento pode favorecer o crescimento de microrganismos deletérios que consomem carboidratos solúveis e os produtos finais da fermentação. Em resposta, ocorre aumento de temperatura e pH da massa ensilada caracterizando a deterioração aeróbia (Filya, 2003; Filya et al., 2006).

A exposição ao ar das silagens promove perda dos constituintes nutritivos mais digestíveis como os carboidratos solúveis e o aumento da porção fibrosa. Tabacco et al. (2011) encontraram aumento do teor de FDN de silagens de sorgo com o avançar da exposição ao ar nos tempos zero, sete e 14 dias de exposição. Nesse contexto, as silagens reensiladas podem apresentar redução do valor nutritivo pela perda da estabilidade aeróbia no intervalo entre a desensilagem e a reensilagem ou mesmo potencializar as perdas quando forem reabertas.

O termo estabilidade aeróbia é usado para definir a resistência que a massa ensilada oferece a deterioração após exposição ao ar. Consiste no número de horas que a silagem leva para atingir dois graus acima da temperatura ambiente (Filya, 2003). A manutenção de maior tempo estável visa a conservação dos nutrientes e a formulação de dietas precisas a fim de garantir adequado desempenho animal e retorno econômico. Grande parte dos esforços feitos para produzir silagem em quantidade e qualidade é anulada quando ocorre a perda da estabilidade aeróbia (Tabacco et al., 2011).

Os principais microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia são as leveduras e os fungos (Santos et al., 2013), apesar de algumas bactérias acéticas também participarem. As leveduras são em sua maioria aeróbias estritas, porém podem ficar dormentes dentro do silo

até que seja aberto e o ar entre novamente na massa ensilada (Pahlow et al., 2003; Rocha et al., 2006). São as primeiras a se desenvolverem, pois são capazes de se reproduzir em ambientes com pouco oxigênio e com pH mais ácido (Muck, 2010). De modo geral podem crescer em pH de três a oito e temperatura de zero a 37°C, no entanto, tem ótimo crescimento em pH em torno de 6,00 (Pitt; Muck, 1993) e à temperatura de 30°C (Ashbell et al., 2002) e 37°C (Pitt; Muck, 1993).

As leveduras são divididas em dois grandes grupos: as utilizadoras de ácidos orgânicos como os gêneros *Cândida*, *Endomycopsis*, *Hansenula* e *Pichia* e aquelas que utilizam açúcares como o gênero *Torulopsis*. Atuam no consumo de ácido láctico promovendo, dessa maneira, a elevação do pH da massa ensilada, e também no consumo dos carboidratos solúveis. Em ambos os substratos ocorre produção de CO<sub>2</sub>, água e calor. Com o pH mais alto, melhores condições são propiciadas ao desenvolvimento de outros microrganismos como os fungos que irão colaborar com a deterioração aeróbia (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003).

Os fungos são aeróbios estritos e crescem mais lentamente quando comparados aos outros microrganismos de silagens. Podem se desenvolver a uma ampla faixa de temperatura que varia de 10 a 40°C, porém a temperatura ótima situa-se entre 25 a 35°C. O pH ótimo para crescimento é acima de cinco e não são tolerantes a meios ácidos o que faz com cresçam em sucessão às leveduras durante a deterioração aeróbia (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003). As pesquisas mostram contagem significativa de fungos em torno de oito dias após exposição ao ar (Gerlach et al., 2013).

Os principais gêneros de fungos encontrados em silagens são *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssochlamys*, *Arthrimum*, *Geotrichum* e *Monascus*. Assumem grande importância pelos efeitos negativos na saúde animal e humana que as toxinas produzidas por alguns gêneros como *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* podem causar. Consomem açúcares, lactato e celulose contribuindo com o aumento de temperatura e a diminuição de fontes energéticas para os ruminantes (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003).

Com o propósito de promover melhora na estabilidade aeróbia pela inibição do crescimento desses microrganismos bem como aumentar a eficiência da fermentação anaeróbia, vários tipos de inoculantes bacterianos são disponibilizados no mercado nacional e internacional.

## 2.5 Inoculantes microbianos utilizados em silagens

Os inoculantes comerciais são compostos por bactérias lácticas homofermentativas, heterofermentativas ou a combinação destas (Zopollato et al., 2009) além de bactérias propiônicas. Os microrganismos lácticos homofermentativos caracterizam-se pela conversão de glicose e frutose em ácido láctico. Produzem dois mols de ácido láctico pela fermentação de um mol de glicose. Essa rota fermentativa promove perdas irrisórias de matéria seca (McDonald et al., 1991). O objetivo do aumento da sua população no silo é para que dominem o processo fermentativo, intensifiquem produção de ácido láctico e assim promovam queda do pH (Mohammadzadeh et al., 2012). As bactérias homofermentativas tipicamente usadas em inoculantes para ensilagem incluem *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus* spp. e *Lactococcus lactis*. Entre essas, a espécie *Lactobacillus plantarum* é a mais utilizada devido seu vigoroso crescimento, tolerância ao meio ácido e potencial elevado de produção de ácido láctico (Muck, 2010).

Entretanto, silagens com predominância de bactérias homofermentativas e acúmulo de ácido láctico podem perder a estabilidade aeróbia mais rápido em função da baixa propriedade antifúngica desse ácido, além de servir como substrato para o crescimento de fungos e leveduras (Arriola et al., 2011; Mohammadzadeh et al., 2012). Nesse sentido, as bactérias lácticas heterofermentativas e as bactérias propiônicas têm potencial efeito benéfico, pois utilizam carboidratos solúveis como substrato para produção de ácido acético e propiônico, que são efetivos no controle de fungos e leveduras (Muck, 2010).

As bactérias heterofermentativas metabolizam os carboidratos solúveis a ácido láctico, acético, metanol etanol e CO<sub>2</sub>. Não são tão eficientes quanto as homofermentativas para promover a redução do pH. Além disso, a conversão dos carboidratos solúveis em outros produtos além do ácido láctico eleva as perdas de matéria seca. Os principais microrganismos dessa categoria são os *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus brevis* (McDonald et al., 1991; Pahlow et al., 2003).

As bactérias propiônicas têm a capacidade de converter ácido láctico e glicose em ácido propiônico. A principal bactéria propiônica encontrada nos inoculantes comerciais é a *Propionibacterium acidipropionici*. Os ácidos propiônico e acético são comprovadamente efetivos em inibir o crescimento de leveduras e fungos sendo o propiônico mais eficiente (Zhang et al., 2010).

O efeito de ambos os ácidos consiste que em pH inferior ao pka (4,73 e 4,88 acético e propiônico, respectivamente) permanecem na forma não dissociada. Essa forma atravessa a

membrana das células de leveduras e fungos por transporte sem gasto energético e alcança o citoplasma. Nesse ambiente, em virtude do pH ser próximo a 7,00 ocorre liberação de íons  $H^+$  o que implica em gasto de energia para sua expulsão do meio causando a morte da célula (Figura 1) – (Davidson, 2007; Lambert; Stratford, 1999).

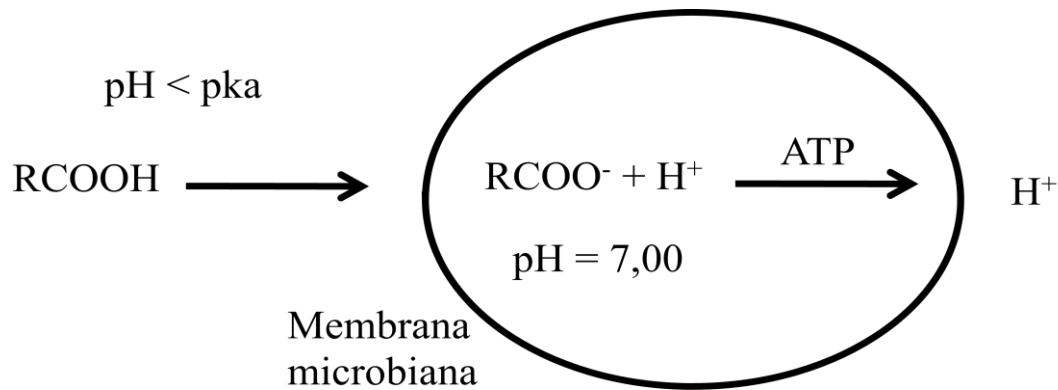


Figura 1: Mecanismo de ação dos ácidos na célula microbiana

Fonte: Adaptado de Lambert e Stratford, 1999.

Em adição a esse efeito, o ácido propiônico ainda pode ser convertido em propionil – CoA que inibe a piruvato desidrogenase e então o metabolismo de glicose pelos fungos e leveduras (Brock; Buckel, 2004). Isso potencializa o efeito do ácido propiônico quando comparado ao ácido acético.

Os trabalhos realizados com inoculantes ainda não são conclusivos principalmente em silagens de milho e sorgo. Tabacco et al. (2011) encontraram maior estabilidade aeróbia para silagens de milho (35,2% de MS) e sorgo (40,4% de MS) inoculadas com *L. buchneri* quando comparadas com controle e *L. plantarum*. Em experimento com quatro cultivares de sorgo tratado com enzimas fibrolíticas ou inoculadas com *L. buchneri* combinado com *L. plantarum*, Thomas et al. (2013) não encontraram efeito na atividade de fungos e leveduras e na estabilidade aeróbia. Filya et al. (2004) estudaram silagens de milho (35,8% de MS) e sorgo (27,2% de MS) contendo *Propionibacterium acidipropionici* combinado ou não com *L. plantarum* e silagem controle (sem inoculante) e observaram redução no número de leveduras e fungos com conseqüente melhora na estabilidade aeróbia das silagens inoculadas somente com *Propionibacterium acidipropionici*. Já Filya et al. (2006), trabalhando com silagens de milho e sorgo com baixo teor de matéria seca (23,1 e 22,8%, respectivamente) submetidas aos

mesmos tratamentos citados anteriormente não respaldam efeito de nenhum dos inoculantes na contagem de leveduras e fungos e na estabilidade aeróbia.

Assim como na contagem de microrganismos e na estabilidade aeróbia, os resultados de pesquisa com uso de inoculantes com relação às características fermentativas, composição bromatológica e perdas de matéria seca não são conclusivos. Em análise da literatura nacional sobre o uso de inoculantes contendo principalmente bactérias homofermentativas, Zopollatto et al. (2009) não encontraram vantagens expressivas para o uso desses produtos em silagens de sorgo. De forma geral, a utilização de inoculantes tem mostrado alguns efeitos positivos em silagens de milho e sorgo produzidas com teor de matéria seca mais elevado (Hu et al., 2009). Trabalhos com silagens reensiladas ainda são escassos.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1511-1516, 2011.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington: AOAC, 1995. 2000p.

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

BOTELHO, P. R. F.; PIRES, D. A. A.; SALES, E. L. J.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; JAYME, D. G.; REIS, S. T. Avaliação de genótipos de sorgo em primeiro corte e rebrota para produção de silagem. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 9, n. 3, p. 287-297, 2010.

BROCK, M.; BUCKEL, W. On the mechanism of action of the antifungal agent propionate propionyl-coA inhibits glucose metabolism in *Aspergillus nidulans*. **European Journal Biochemistry**, 271, n. 15, p. 3227-3241, 2004.

CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMAN, E.; ZERVOUDAKIS, J. T.; PEREIRA, O. G.; VELOSO, R. G.; PEREIRA, E. S. Cinética ruminal das frações de carboidratos, produção de gases, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e NDT estimado da silagem de milho com diferentes proporções de grãos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2332-2339, 2002.

DAVIDSON, P. M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: DOYLE, M. P.; BEUCHT, L. R.; MONTEVILLE, T. J. (Ed). **Food Microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington, ASM, 2007p.

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

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

FILYA, I; SUCU, E; KARABULUT, A. The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 353-358, 2006.

FILYA, I; SUCU, E; KARABULUT, A. The effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 818-826, 2004.

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

HU, W.; SCHMIDT, R. J.; MCDONELL, E. E.; KLINGERMAN, C. M.; KUNG JÚNIOR, L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 3907-3914, 2009.

JUNGES, D.; SCHMITD, P.; NOVINSK, C. O.; DANIEL, J. L. P. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 4, p. 371-377, 2013.

LAMBERT, R. J.; STRATFORD, M. Weak-acid preservatives: modeling microbial inhibition and response. **Journal of Applied Microbiology**, v. 79, n. 5, p. 922-928, 1999.

LANDAU, E. C.; SANS, L. M. A. Clima. In: RODRIGUES, J. A. S. (Ed.). **Cultivo do sorgo**. 8. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção, 2). Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo\\_8\\_ed/clima.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_8_ed/clima.htm)>. Acesso em 01 Maio 2015.

MACEDO, C. H. O.; ANDRADE, A. P.; SANTOS, E. M.; SILVA, D. S.; SILVA, T. C.; EDVAN, R. L. Perfil fermentativo e composição bromatológica de silagens de sorgo em função da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 2, p. 371-382, 2012.

MACHADO, F. S.; RODRÍGUEZ, M. N.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; RIBAS, M. N.; LOBATO, F. C. L.; VEIGA, I. R. F. M.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. G.; PEREIRA, L. G. R. Valor nutricional de híbridos de sorgo em diferentes estádios de maturação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 1, p. 244-252, 2011.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; RODRIGUES, J. A. S. **Fisiologia da planta de sorgo**. Comunicado técnico 86 – Embrapa, 4p, 2003.



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

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

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

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

PIRES, D. A. A.; GUIMARÃES JÚNIOR., R.; JAYME, D. G.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; RODRÍGUEZ, N. M.; BORGES, I.; BORGES, A. L. C.; JAYME, C. G. Qualidade e valor nutritivo das silagens de três híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) colhidos em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, p. 241-256, 2006.

PIRES, D. A. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; SALES, E. C. J.; REIS, S. T.; JAYME, D. G.; CRUZ, S. S.; LIMA, L. O. B.; TOLENTINO, D. C.; ESTEVES, B. L. C. Características das silagens de cinco genótipos de sorgo cultivados no inverno. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 1, p. 68-77, 2013.

PITT, R. E.; MUCK, R. E. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 55, p. 11-26, 1993.

ROCHA, K. D.; PEREIRA, O. G. P.; VALADARES FILHO, S. C.; OLIVEIRA, A. P.; PACHECO, L. B. B.; CHIZZOTTI, F. H. M. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zeamays*L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 389-395, 2006.

RODRIGUES, J. A. S. Produção e utilização de silagem de sorgo In: Simpósio Mineiro sobre Nutrição de Gado de Leite, 5, 2007, Belo Horizonte. **Anais...**Belo Horizonte, 2007.

SANS, L. M. A.; MORAIS, A. V. C.; GUIMARÃES, D. P. Época de plantio de sorgo.Clima.In: RODRIGUES, J. A. S. (Ed.). **Cultivo do sorgo**. 8. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção, 2). Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo\\_8\\_ed/clima.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_8_ed/clima.htm)>. Acesso em 01 Maio 2015.

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, p. 7777-7789, 2013.

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

TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A.; BORREANI, G. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1409-1419, 2011.

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

THOMAS, M. E.; FOSTER, J. L.; MCCUISTION, K. C.; REDMON, L. A.; JESSUP, W. Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 7120-7131, 2013.

TOMICH, T. R.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; TOMICH, R. G. P.; BORGES, I. **Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma**

**proposta para qualificação da fermentação.** Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2003. 20p. (Documento, 57).

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

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

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; CRUZ, I. **Manejo de pragas na cultura do sorgo.** Circular técnica27 - Embrapa, 25p, 2003.

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

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

**O ARTIGO A SEGUIR ESTÁ NAS NORMAS DA REVISTA  
GRASS AND FORAGE SCIENCE**

1 QUALIDADE DAS SILAGENS DE SORGO REENSILADAS COM E SEM  
2 INOCULANTE MICROBIANO

3

4 P. H. F. Michel<sup>1</sup>, D. G. Jayme<sup>1</sup>, L. C. Gonçalves<sup>1</sup>, J. A. S. Rodrigues<sup>2</sup>, K. M. Keller<sup>3</sup>, V. S.  
5 Raposo<sup>1</sup>, E. M. De Lima<sup>1</sup> e F. P. C. Santos

6

7 <sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais,  
8 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

9

10 <sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA – Milho e Sorgo, Sete Lagoas,  
11 Minas Gerais, Brasil.

12

13 <sup>3</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade  
14 Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

15

16

17

18 **RESUMO:**

19

20 A reensilagem tem sido uma prática comum no Brasil e o uso de inoculantes pode ser uma  
21 alternativa para evitar os danos da exposição ao ar. Objetivou-se determinar o efeito da  
22 reensilagem e do uso de inoculante microbiano na qualidade de silagens de sorgo. Foi testado  
23 o uso ou não de um inoculante (*Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium*  
24 *acidipropionici*) na ensilagem e a reensilagem ou não do material após 24 horas de exposição  
25 ao ar em esquema fatorial 2 x 2. Avaliaram-se as perdas por gases, por efluentes e totais de  
26 matéria seca, os parâmetros fermentativos, a composição bromatológica, a estabilidade  
27 aeróbia e a contagem de microrganismos aeróbios. As perdas por efluentes foram maiores nas  
28 silagens reensiladas. Estas silagens apresentaram menor teor de ácido lático e maiores teores  
29 dos ácidos acético e propiônico. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi maior para as  
30 silagens que não foram reensiladas. As silagens reensiladas apresentaram maior estabilidade  
31 aeróbia. O uso do inoculante aumentou apenas o teor de ácido acético das silagens. A  
32 reensilagem de sorgo aumentou em 71,2% perda por efluentes e reduziu em 5,35% a  
33 digestibilidade *in vitro* da matéria seca. O uso do inoculante não influenciou a qualidade das  
34 silagens de sorgo.

35 Palavras-chave

36 *Propionibacterium acidipropionici*, estabilidade aeróbia, leveduras, fungos.

37

## 38 **Introdução**

39

40 A ensilagem é um importante método de conservação de volumoso utilizado no mundo. O  
41 sorgo se encontra entre as planta mais destinada para esse fim e apresenta como principal  
42 característica agrônômica a resistência ao déficit hídrico.

43 Com a instabilidade climática, os erros cometidos durante a confecção das silagens, a falta  
44 de planejamento, de aptidão para agricultura da maioria dos pecuaristas, de maquinário e/ou  
45 áreas para plantio e colheita das lavouras tem intensificado a demanda por silagens. Isso  
46 estimula cada vez mais a aquisição de silagens de outras propriedades e a “reensilagem” desse  
47 material na fazenda, estimulando dessa forma, a produção comercial de silagens. Porém, o  
48 valor nutritivo das silagens obtidas dessa maneira pode ficar comprometido por perdas além  
49 daquelas ocorridas durante o processo fermentativo devido à exposição dessas silagens ao ar.  
50 Atualmente, as informações das perdas ocorridas durante o processo de reensilagem são  
51 escassas, dificultando desta forma a tomada de decisão na compra de silagens.

52 A entrada de oxigênio na massa ensilada favorece o crescimento de leveduras e fungos que  
53 metabolizam os açúcares solúveis e o ácido lático produzido na fermentação (Filya et al.,  
54 2006). Como consequência ocorre aumento da temperatura e do pH, além das perdas  
55 indesejáveis dos carboidratos solúveis que são de alta digestibilidade e o aumento na  
56 proporção de componentes fibrosos (Tabacco et al., 2011).

57 Vários tipos de inoculantes microbianos têm sido disponibilizados no mercado. São  
58 encontradas principalmente bactérias homofermentativas produtoras de ácido lático que atuam  
59 na rápida queda do pH e, em tese, melhoram a fermentação. Para minimizar a degradação  
60 aeróbia, outras bactérias, como as propiônicas, têm sido adicionadas aos inoculantes em  
61 conjunto com as bactérias lácticas homofermentativas. Isso porque o ácido propiônico é mais  
62 efetivo no controle de microrganismos que promovem a deterioração aeróbia (Zhang et al.,

63 2010). Informações a respeito das perdas e da qualidade de silagens de sorgo reensiladas bem  
64 como da utilização de inoculantes nesse material ainda são inexistentes. Desta forma,  
65 objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante contendo bactéria  
66 láctica homofermentativa e bactéria propiônica na qualidade das silagens de sorgo.

67

## 68 **Materiais e métodos**

69

### 70 **Plantio, colheita e ensilagem**

71

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

77 O momento da colheita foi no estágio leitoso/pastoso de maturação do grão. Antes da  
78 colheita, a lavoura foi amostrada de forma aleatória colhendo-se as plantas em cinco amostras  
79 de cinco metros lineares. Contou-se o número de plantas e mediu-se a altura, as plantas foram  
80 pesadas e o resultado utilizado para cálculo de produtividade de massa verde. Foi observado  
81 em média 121,72 mil plantas/ha, 2,16 metros de altura e produtividade de 11,93 Toneladas de  
82 massa seca/ha. Para cada amostra retirada no campo, seis plantas foram coletadas e os  
83 constituintes folha, colmo e panícula separados, pesados e processados em laboratório para  
84 determinação das porcentagens com base na matéria seca (MS). Obteve-se, em média, 16,28%  
85 de folha, 44,90% de colmo e 38,82% de panícula.

86 Posteriormente, a lavoura foi colhida e picada entre um e dois centímetros utilizando-se  
87 uma colheitadeira de forragem convencional. A forragem picada foi amostrada para posterior



88 análise do material fresco e imediatamente depositada e compactada manualmente nos silos  
89 experimentais. Estes consistiram de baldes plásticos com capacidade de armazenamento de  
90 20L equipados com tampa provida de válvula tipo Bunsen para permitir somente a saída de  
91 gases. No interior de cada balde foi colocado um saco de algodão com aproximadamente dois  
92 quilogramas de areia seca para quantificação do efluente produzido. Após enchimento e  
93 vedação os silos foram transferidos para a Escola de Veterinária da Universidade Federal de  
94 Minas Gerais na cidade de Belo Horizonte – Minas Gerais.

95

## 96 **Tratamentos**

97

98 Foram estudados a aplicação de um inoculante no momento da ensilagem e a reensilagem do  
99 material após 24 horas de exposição ao ar. Os tratamentos foram arranjados em esquema  
100 fatorial 2 x 2 sendo o primeiro fator a aplicação ou não do inoculante e o segundo a  
101 conservação por meio de silagem convencional ou realização da prática de reensilagem. O  
102 delineamento experimental foi em blocos ao acaso com cinco repetições.

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

111 A reensilagem foi realizada após 56 dias da ensilagem de forma que os silos foram abertos,  
112 o material desensilado e reensilado após 24 horas de exposição ao ar. Esse procedimento

113 ocorreu em galpão na cidade de Belo Horizonte – Minas Gerais com início às oito horas da  
 114 manhã do dia 23 de abril de 2014 e término às oito da manhã do dia seguinte. A temperatura e  
 115 a umidade relativa do ar registradas em determinados horários no decorrer da exposição  
 116 aeróbia foram obtidas na estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil  
 117 (INMET) localizada a 2,4 quilômetros do local (Tabela 1).

118

119 **Tabela 1** Temperatura e umidade relativa do ar durante a exposição aeróbia

<b>Data</b>	<b>Horário</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Umidade relativa do ar (%)</b>
23/04/2014	08:00	20·00	83
	12:00	25·00	67
	14:00	26·00	61
	16:00	23·00	78
	18:00	20·00	92
	20:00	22·00	87
24/04/2014	00:00	21·00	88
	02:00	20·00	92
	04:00	21·00	92
	08:00	20·00	93

120

121

122 **Análises de perdas**

123

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

127 No momento da desensilagem, que ocorreu aos 56 dias após a ensilagem, os silos  
 128 pertencentes ao tratamento “reensilagem” foram pesados cheios e vazios após a retirada da  
 129 forragem para determinação da produção de gases e de efluentes, respectivamente. A  
 130 forragem foi amostrada para determinação do teor de matéria seca. A areia depositada no  
 131 fundo de cada silo foi trocada, o conjunto vazio foi pesado e a forragem reensilada após 24  
 132 horas de exposição ao ar. Após serem preenchidos e vedados, os silos experimentais foram  
 133 pesados cheios.

134 Decorridos 56 dias do momento de reensilagem, todos os silos foram pesados cheios para  
135 determinação das perdas por gases conforme a fórmula:

136

$$137 \quad G = \frac{[(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pen) * MSab]}{[(PCen - Pen) * MSen]} \times 100$$

139

140 Em que:

141 G = Perdas por gases em (% MS);

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

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

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

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

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

147

148 Em seguida, os silos foram abertos, a silagem retirada, amostrada e o conjunto pesado.

149 Dessa forma, efetuou-se a quantificação do efluente produzido, conforme a fórmula:

150

$$151 \quad PE = \frac{Pef \times 1000}{$$

$$152 \quad MVi}$$

153

154 Em que:

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

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

158 MVi = quantidade de massa verde de forragem ensilada (kg).

159

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

163

$$164 \quad PMS = \frac{[(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pab) * MSab]}{[(PCen - Pen) * MSen]} \times 100$$

166

167 Em que:

168 PMS = Perda total de MS (%);

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

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

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

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

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

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

175

176 As perdas por gases e por efluentes bem como as perdas totais de matéria seca para as  
177 silagens reensiladas foram obtidas pelo somatório das perdas ocorridas durante a abertura para  
178 a desensilagem e a abertura final.

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

182

183

## 184 **Análises dos parâmetros fermentativos**

185

186 A amostra destinada para avaliação da qualidade da fermentação foi submetida à prensa  
187 hidráulica para extração do “suco”. Neste foram determinados os valores de pH, nitrogênio  
188 amoniacal e de ácidos orgânicos. Os valores de pH foram obtidos utilizando-se o pHmetro HI  
189 221 (Hanna instruments, EUA). O teor de nitrogênio amoniacal foi obtido pela destilação com  
190 óxido de magnésio e cloreto de cálcio empregando-se solução receptora de ácido bórico e  
191 titulação com ácido clorídrico a 0,1 N. Os teores dos ácidos orgânicos (ácidos acético, láctico,  
192 propionico and butírico) foram obtidos por meio de cromatografia líquido-gasosa (Waters®  
193 Alliance® HPLC e2695 with 2998 PDA Detector).

194

## 195 **Análises bromatológicas e de digestibilidade *in vitro* da matéria seca**

196

197 As amostras retiradas para as análises de composição química juntamente com as dos  
198 constituintes morfológicos e forragem fresca foram submetidas à pré-secagem em estufa de  
199 ventilação forçada a 55°C por 72 horas. Logo após, foram processadas em moinho com  
200 peneira de um mm e utilizadas para determinação de MS a 105°C, cinzas, proteína bruta (PB)  
201 e extrato etéreo (EE) segundo AOAC (1995). Os componentes da parede celular foram  
202 obtidos pelo método sequencial (fibra em detergente neutro – FDN, fibra em detergente ácido  
203 – FDA e lignina), conforme Van Soest et al. (1991).

204 Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de cinzas e PB  
205 para obtenção dos valores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína  
206 insolúvel em detergente ácido (PIDA). Esses valores foram usados para corrigir a FDN e a  
207 FDA para cinzas e proteína (FDN<sub>ncp</sub> e FDA<sub>ncp</sub>). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram  
208 calculados usando a equação  $CNF = 100 - (\% FDN_{co} + \% PB + \% EE + \% Cinzas)$ .

209 A Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada segundo metodologia  
210 descrita por Tilley e Terry (1963), adaptada por Holden (1999) para utilização do simulador  
211 de rúmen Daisy<sup>II</sup> device (ANKOM Technology, Fairport, New York, USA). O liquid ruminal  
212 foi coletado de um bovino fistulado alimentado com uma dieta composta composta de 10 kg  
213 (MS) de silagem de milho e 3 kg (MS) de um concentrado comercial com 24% proteína bruta.

214

### 215 **Contagem de microrganismos**

216

217 A contagem de microrganismos (leveduras, fungos e bactérias aeróbias) foi feita pelo método  
218 de diluição em placas usando os seguintes procedimentos. Primeiro, 25 gramas de silagem  
219 foram diluídas em 225 mL de água peptonada a 0,1% (0,1 g de peptona por litro de água  
220 destilada) e a mistura agitada durante cinco minutos. Para cada amostra, uma diluição serial  
221 apropriada ( $10^{-2}$  a  $10^{-6}$ ) foi feita em tubos contendo 9 mL de solução peptonada 0,1% estéril.  
222 Para cada diluição, 0,1 mL foi retirado e semeado em placas de Petri, e o inóculo foi  
223 espalhado na superfície do meio de cultura com uma alça de vidro (Drigalski). A contagem  
224 total de bactérias foi determinada aerobicamente usando o meio de cultura Ágar Contagem  
225 Padrão (PCA) após a incubação por 1-3 dias a  $36 \pm 1$  °C. A contagem total de leveduras foi  
226 determinada usando meio de cultura Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar (TGY) após  
227 a incubação aeróbia por 1-3 dias a  $30 \pm 1$  °C. E a contagem total de fungos foi determinada  
228 usando meio de cultura Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar (DRBC) após a  
229 incubação aeróbia por 5-7 dias a  $25 \pm 1$  °C. Todas as placas foram examinadas diariamente  
230 para os tipos de colônias típicas e as características morfológicas associadas com cada meio  
231 de cultura. A contagem microbiana total foi expressa como unidade formadora de colônias  
232 (UFC) e transformada em logaritmo na base 10 para executar a análise estatística.

233

## 234 **Estabilidade aeróbia**

235  
236 A avaliação da estabilidade aeróbia foi realizada no decorrer de dez dias em sala climatizada à  
237 temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  onde foram acondicionados os baldes plásticos contendo 1,5 kg de  
238 silagem. A temperatura das silagens foi monitorada a cada dez minutos com auxílio de  
239 termômetros data loggers inseridos no centro da massa. Adicionalmente, em outro conjunto de  
240 baldes foram depositados 1,5 kg de silagem para descrição do perfil de pH ao longo da  
241 exposição aeróbia. As amostras foram retiradas desses baldes nos dias 0, 2, 6 e 10 após  
242 contato com o ar. A determinação do pH foi feita com base na diluição de nove gramas de  
243 silagem fresca em 60 mL de água destilada e leitura do pH após 30 minutos de repouso (Silva;  
244 Queiroz, 2002). A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo, em horas, que as silagens  
245 apresentaram elevação de  $2^\circ\text{C}$  em relação à temperatura ambiente. No momento em que as  
246 silagens perderam a estabilidade aeróbia, uma amostra foi retirada para contagem de  
247 microrganismos conforme metodologia descrita anteriormente.

248

## 249 **Análise estatística**

250

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

$$253 \quad Y_{ijk} = \mu + R_i + I_j + N_{ij} + B_k + e_{ijk}, \text{ em que:}$$

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

255  $\mu$  = média geral;

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

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

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

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

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

261

262 As médias foram submetidas à análise de interação utilizando o procedimento GLM do  
 263 programa estatístico SAS (SAS Institute, 1985) e caso significativa foi desdobrada. Em casos  
 264 de interação não significativa, os fatores foram comparados separadamente pelo teste de F a  
 265 5% de significância. As variáveis foram correlacionadas pela análise de Pearson, a 5% de  
 266 probabilidade de erro pelo Teste t.

267

## 268 **RESULTADOS**

269

270 O teor de matéria seca observado na planta antes da ensilagem e da aplicação do inoculante  
 271 (Tabela 2) se encontra dentro do padrão respaldado na literatura brasileira para obtenção de  
 272 silagem de sorgo de boa qualidade que se situa entre 25 e 35% (Pires et al., 2006).

273

274 **Tabela 2** Composição bromatológica da forragem fresca

<b>g kg<sup>-1</sup>MS</b>						
<b>MS (g kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Cinzas</b>	<b>PB</b>	<b>EE</b>	<b>FDN</b>	<b>FDA</b>	<b>Lignina</b>
273·12	42·6	66·5	23·7	558·7	301·9	47·93

275

276

277 Não houve interação entre os fatores inoculante e reensilagem para nenhuma das variáveis  
 278 dependentes estudadas. As perdas por gases, efluentes e totais de matéria seca foram  
 279 semelhantes entre as silagens com e sem inoculante (Tabela 3). A reensilagem não influenciou  
 280 as perdas por gases e as perdas totais de matéria seca. Já a perda por efluentes foi  
 281 significativamente maior nas silagens reensiladas.

282

283



284 **Tabela 3** Perdas por gases, por efluentes e perdas totais de matéria seca de silagens de sorgo  
 285 tratadas com inoculantes e reensiladas

Tratamento	Gases (%)	Efluentes (kgTon <sup>-1</sup> )	Totais (%)
Controle			
SIL	11·26	20·43	13·11
RE	12·68	39·93	16·45
LP + PA			
SIL	12·95	19·29	14·67
RE	8·64	28·07	11·14
EPM	0.85	2.42	0.86
Valor de p			
I	NS	NS	NS
R	NS	**	NS
I x R	NS	NS	NS

286 LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem;  
 287 Kg Ton<sup>-1</sup> de massa verde ensilada; EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de  
 288 reensilagem; I x R, efeito de interação; \*\*, p<0,01%; NS, não significativo.

289  
 290  
 291 Não foram observadas alterações nos teores de matéria seca, pH e nitrogênio amoniacal em  
 292 função do uso do inoculante e da reensilagem (Tabela 4). O teor de ácido lático não diferiu  
 293 entre as silagens tratadas e não tratadas com o inoculante. Porém, maior teor de ácido lático  
 294 foi observado nas silagens que não foram reensiladas. O teor de ácido acético foi maior no  
 295 tratamento com inoculante e nas silagens reensiladas. A utilização do inoculante não afetou a  
 296 quantidade de ácido propiônico nas silagens. Já as silagens reensiladas apresentaram maior  
 297 quantidade deste ácido que aquelas não reensiladas. O teor de ácido butírico não sofreu  
 298 influência de nenhum dos tratamentos.

299  
 300

301 **Tabela 4** Parâmetros de qualidade da fermentação de silagens de sorgo tratadas com  
 302 inoculantes e reensiladas

Tratamento	MS (g kg <sup>-1</sup> )	pH	NH <sub>3</sub> - N/NT (g kg <sup>-1</sup> )	Ác. lático (g kg <sup>-1</sup> MS)	Ác. acético (g kg <sup>-1</sup> MS)	Ác. Propiônico (g kg <sup>-1</sup> MS)	Ác. Butírico (g kg <sup>-1</sup> MS)
Controle							
SIL	246.8	3.80	82.4	48.67	6.51	1.91	9.30
RE	245.5	4.13	80.0	24.36	19.26	6.16	7.77
LP + PA							
SIL	242.3	4.02	82.3	32.50	13.79	2.56	9.85
RE	254.4	4.08	69.5	23.20	23.11	6.07	7.48
EPM	0.20	0.06	0.35	0.33	0.19	0.07	0.11
Valor de p							
I	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
R	NS	NS	NS	**	**	**	NS
I x R	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

303 LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem;  
 304 MS, matéria seca; NH<sub>3</sub>, nitrogênio amoniacal; NT, nitrogênio total; EPM, erro padrão da média; I,  
 305 efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de interação; NS, não significativo.

306

307

308 A composição bromatológica foi semelhante entre os tratamentos com e sem inoculante,

309 exceto para os valores de PIDN que foram maiores nas silagens inoculadas (Tabela 5). Apesar

310 da diferença significativa entre as silagens controle e as inoculadas com relação a PIDN (21,0

311 x 23,1 g kg<sup>-1</sup> MS), essa diferença foi pequena e insuficiente para causar outras modificações

312 na composição bromatológica das silagens. Não houve diferença na composição

313 bromatológica em função da reensilagem.

314 A DIVMS não diferiu entre as silagens tratadas e não tratadas com inoculante (Tabela 5).

315 Já com relação aos tratamentos silagem x reensilagem, a DIVMS foi maior para as silagens

316 que não foram submetidas à reensilagem.

317

318

319 **Tabela 5** Composição bromatológica de silagens de sorgotratadas com inoculantes e  
 320 reensiladas

Variável (g kg <sup>-1</sup> MS)	Tratamentos				EPM	Valor de p		
	Controle		LP + PA			I	R	I x R
	SIL	RE	SIL	RE				
Cinzas	43·2	44·6	44·5	44·1	0·04	NS	NS	NS
PB	64·7	67·5	67·7	68·3	0·06	NS	NS	NS
PIDN	20·0	22·1	23·7	22·4	0·04	*	NS	NS
PIDA	12·1	13·3	11·6	12·2	0·04	NS	NS	NS
EE	33·7	29·5	31·7	31·0	0·08	NS	NS	NS
FDN	594·2	604·4	603·6	624·0	0·59	NS	NS	NS
FDNcp	562·5	570·1	567·4	587·8	0·57	NS	NS	NS
FDA	329·9	332·1	330·4	344·0	0·39	NS	NS	NS
FDAcP	309·0	311·2	311·3	323·4	0·37	NS	NS	NS
Lignina	41·4	41·4	38·6	31·0	0·24	NS	NS	NS
CNF	295·8	288·2	288·7	268·8	0·58	NS	NS	NS
DIVMS	598·4	573·2	585·5	550·2	0·65	NS	*	NS

321 LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem;  
 322 MS, matéria seca; PB, proteína bruta; PIDN, proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA, proteína  
 323 insolúvel em detergente ácido; EE, extrato etéreo; FDN, fibra em detergente neutro; FDNcp, fibra em  
 324 detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDA, fibra em detergente ácido; FDAcp, fibra em  
 325 detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; DIVMS, digestibilidade *in vitro* da matéria seca;  
 326 EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de interação;  
 327 \*, p<0,05; NS, não significativo.

328  
 329  
 330 A contagem de microrganismos na abertura final dos silos foi semelhante entre as silagens  
 331 com e sem inoculante. Resultados semelhantes foram obtidos em função do uso da  
 332 reensilagem (Tabela 6).

333

334 **Tabela 6** Contagem de microrganismos em silagens de sorgo tratadas com inoculantes e  
 335 reensiladas

Tratamento	Contagem de microrganismos (UFCg <sup>-1</sup> )		
	Bactérias	Leveduras	Fungos
Controle			
SIL	3·37x10 <sup>6</sup>	1·07x10 <sup>6</sup>	9·04x10 <sup>3</sup>
RE	3·39x10 <sup>7</sup>	3·36x10 <sup>7</sup>	4·80x10 <sup>3</sup>
LP + PA			
SIL	1·42x10 <sup>8</sup>	3·89x10 <sup>4</sup>	3·07x10 <sup>4</sup>
RE	3·13x10 <sup>7</sup>	2·30x10 <sup>7</sup>	2·47x10 <sup>5</sup>
EPM	0·50	0·45	0·30
Valor de p			
I	NS	NS	NS
R	NS	NS	NS
I x R	NS	NS	NS

336 LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem;  
 337 EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de interação;  
 338 NS, não significativo.

339

340

341 A estabilidade aeróbia foi semelhante entre as silagens não tratadas e tratadas com

342 inoculante. No entanto, foi maior para silagens reensiladas em relação às não reensiladas. O

343 número de microrganismos contados na perda da estabilidade aeróbia não diferiu entre

344 silagens tratadas ou não com inoculante assim como nas silagens que foram ou não

345 reensiladas (Tabela 7). Na média geral, as silagens ficaram estáveis por seis dias após

346 exposição ao ar.

347

348

349 **Tabela 7** Estabilidade aeróbia e contagem de microrganismos no momento da perda da  
 350 estabilidade aeróbia de silagens de sorgo tratadas com inoculantes e reensiladas

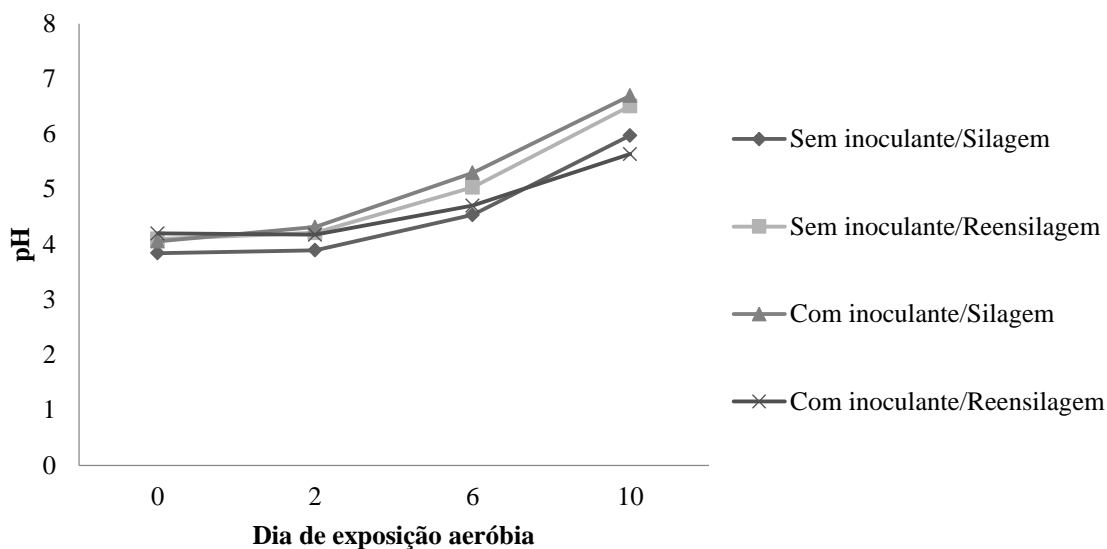
Tratamento	Estabilidade aeróbia (horas)	Contagem de microrganismos (ufc g <sup>-1</sup> )		
		Bactérias	Leveduras	Fungos
Controle				
SIL	114·22	5·39x10 <sup>9</sup>	1·04x10 <sup>10</sup>	1·73x10 <sup>10</sup>
RE	192·14	1·90x10 <sup>10</sup>	5·13x10 <sup>10</sup>	5·20x10 <sup>9</sup>
LP + PA				
SIL	111·94	1·46x10 <sup>8</sup>	1·04x10 <sup>10</sup>	5·42x10 <sup>6</sup>
RE	172·68	9·84x10 <sup>9</sup>	2·36x10 <sup>10</sup>	1·36x10 <sup>10</sup>
EPM	12·96	0·44	0·59	0·84
Valor de p				
I	NS	NS	NS	NS
R	**	NS	NS	NS
I x R	NS	NS	NS	NS

351 LP, *Lactobacillus plantarum*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; SIL, silagem; RE, reensilagem;  
 352 EPM, erro padrão da média; I, efeito de inoculante; R, efeito de reensilagem; I x R, efeito de  
 353 interação; \*\*p<0,01; NS, não significativo.

354

355 O pH das silagens se elevou ao longo da exposição ao ar durante a avaliação da  
 356 estabilidade aeróbia, independente dos tratamentos (Figura 1). Até dois dias após a abertura  
 357 dos silos o pH se manteve bem próximo ao valor inicial. Os valores começaram a se elevar e a  
 358 alcançar patamares próximos a cinco a partir do sexto dia de exposição ao ar. Esse momento  
 359 em que o pH começou a se elevar coincidiu com a média geral do tempo, que foi de seis dias,  
 360 em que as silagens perderam a estabilidade.

361



362

363 **Figura 1** Variação do pH em função dos dias de exposição ao ar no decorrer da avaliação da  
 364 estabilidade aeróbia.

365

366

## 367 DISCUSSÃO

368

369 A resposta ao uso de inoculantes depende de vários fatores como a população microbiana  
 370 natural ou epifítica da planta, a habilidade das bactérias inoculadas de crescerem rapidamente,  
 371 a capacidade de promoverem fermentação adequada e de sobreviverem durante o processo  
 372 fermentativo (McDonald et al., 1991; Muck, 2010). No presente trabalho provavelmente a  
 373 população epifítica de microrganismos da planta sobressaiu em relação às bactérias inoculadas  
 374 o que impediu a sua atuação. Segundo Muck (2010) quando a população de bactérias lácticas  
 375 epifítica é maior que a quantidade aplicada no inoculante, este pode não interferir na  
 376 fermentação. Dessa maneira, pode ser uma explicação para a ausência de efeito do inoculante  
 377 nas perdas totais de matéria seca.

378 A diferença estatística observada na perda por efluentes (71,2% maior) nas silagens  
 379 reensiladas quando comparado às silagens que não foram reensiladas provavelmente  
 380 aconteceu pela compactação do material, que favorece a saída de água das células,  
 381 aumentando os efluentes. A silagem reensilada passa pelo processo de compactação por duas

382 vezes, sendo, portanto, mais sujeita a saída de efluentes. Isso possibilitou a lixiviação dos  
383 componentes da planta para a areia depositada no fundo dos silos experimentais também por  
384 duas vezes. Esse fato é reforçado pelo teor de matéria seca da forragem fresca antes da  
385 aplicação do inoculante acima dos 25% recomendado por McDonald et al. (1991). A  
386 recomendação desses autores é para que as perdas por efluentes sejam minimizadas e os  
387 nutrientes preservados no material ensilado. Assim como nesse trabalho, pesquisas recentes  
388 com silagem de milho não têm respaldado efeito da reensilagem sobre as perdas de matéria  
389 seca (Chen; Weinberg, 2014).

390 O teor de matéria seca das silagens reduziu quando comparado ao teor da forragem fresca  
391 antes da aplicação do inoculante. Vale ressaltar que a recomendação da aplicação de apenas  
392 dois litros da mistura água e inoculante por tonelada de silagem não foi suficiente para  
393 promover queda no teor de matéria seca da forragem fresca. A fermentação dos carboidratos  
394 solúveis pelas bactérias lácticas gera água o que justifica a queda no teor de matéria seca das  
395 silagens em relação à forragem fresca (McDonald et al., 1991).

396 A aplicação de inoculantes em silagens visa aumentar a produção de ácido lático e diminuir  
397 o pH (Mohammadzadeh et al., 2012). A utilização do inoculante nesse trabalho não exerceu  
398 efeito sobre essas variáveis, provavelmente em função da boa qualidade da silagem controle  
399 assim como relatado por Zopollatto et al. (2009). Apesar da utilização da bactéria propiônica,  
400 não houve aumento na concentração de ácido propiônico nas silagens inoculadas. Segundo  
401 Filya et al. (2006), a bactéria *Propionibacterium acidipropionici* não é tolerante às condições  
402 ácidas (valores abaixo ou próximos de quatro). Logo, o pH abaixo de 4,2 das silagens desse  
403 trabalho pode ter inibido o crescimento dessa bactéria e a produção de ácido propiônico.

404 A entrada de oxigênio no silo favorece o crescimento de microrganismos deletérios que  
405 consomem os carboidratos solúveis e os produtos finais da fermentação. Em resposta, ocorre  
406 o aumento do pH da massa ensilada (Filya, 2003; Filya et al., 2006). A exposição ao ar por 24

407 horas e a reensilagem do material não alterou os valores de pH. Provavelmente por causa do  
408 tempo de exposição, do pH ácido das silagens bem como pelas condições climáticas  
409 encontradas no momento da exposição ao ar (Tabela 1). Essas condições não favoreceram o  
410 crescimento exponencial de leveduras e fungos que são os principais microrganismos aeróbios  
411 envolvidos na deterioração aeróbia de silagens (Pahlow et al., 2003; Santos et al., 2013).

412 Apesar da semelhança estatística na contagem microbiana (Tabela 6), o menor teor de  
413 ácido lático nas silagens reensiladas indica que houve consumo desse ácido por  
414 microrganismos. Sabe-se que este ácido é um dos principais substratos para o crescimento de  
415 microrganismos aeróbios deterioradores de silagens (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003). O  
416 maior teor de ácido acético nas silagens reensiladas pode ser um indício que, embora não  
417 tenha sido observada diferença estatística na contagem (Tabela 6), tenha ocorrido diferença  
418 nas espécies de bactérias contabilizadas. Nesse sentido, pode ter ocorrido o crescimento de  
419 bactérias ácido acéticas. Essas bactérias, juntamente com as leveduras, são as primeiras a se  
420 desenvolverem nas silagens expostas ao ar e podem ser a causa do aumento do teor de ácido  
421 acético nas silagens reensiladas (Muck, 2010).

422 A composição bromatológica não foi alterada pelo uso de inoculante em função da boa  
423 qualidade da silagem controle. Segundo Tabacco et al., (2011) a exposição ao ar possibilita o  
424 aumento dos componentes fibrosos. O aumento da fração fibrosa ocorre pelo consumo de  
425 carboidratos solúveis por leveduras e fungos que proliferam quando o oxigênio penetra na  
426 massa ensilada. Porém, no presente estudo a exposição ao ar durante 24 horas e a  
427 compactação não alterou a fração fibrosa da silagem. O tempo de exposição, as condições  
428 ácidas da silagem bem como as temperaturas no momento da exposição podem explicar esse  
429 resultado. Em silagens de milho reensiladas em até 48 horas de exposição ao ar Chen and  
430 Weinberg (2014) não observaram alteração nos componentes fibrosos.



431 A DIVMS não foi alterada pelo uso do inoculante provavelmente pela baixa atuação dos  
432 microrganismos inoculados no processo fermentativo o que não propiciou alterações  
433 principalmente nas frações fibrosas. A menor DIVMS observada nas silagens reensiladas  
434 pode ser explicada pela maior perda de efluentes desse material. O efluente de silagens é  
435 composto por grande quantidade de compostos orgânicos de maior digestibilidade como as  
436 proteínas e os carboidratos solúveis (McDonald et al., 1991). A maior perda de efluentes das  
437 nesse material pode ter diminuído a disponibilidade de nutrientes digestíveis para os  
438 microrganismos ruminais, apesar de não ter sido suficiente para promover diferença estatística  
439 nos carboidratos não fibrosos e na fração protéica. Foi observada DIVMS 5,35% menor para  
440 as silagens reensiladas o que na prática implica em maior custo por unidade de material  
441 digestível.

442 De forma geral, todas as silagens tiveram baixa contagem de leveduras e fungos na  
443 abertura final dos silos. Segundo Pitt et al. (1991), o crescimento desses microrganismos não  
444 reduz a qualidade da silagem a menos que a contagem alcance aproximadamente  $10^8$ UFC g<sup>-1</sup>  
445 de levedura ou  $10^6$ UFC g<sup>-1</sup> de fungos. A aplicação do inoculante não alterou a contagem de  
446 microrganismos na abertura final por ter exercido baixa influência na fermentação. A  
447 exposição ao ar por 24 horas e a reensilagem do material não alterou a contagem na abertura.  
448 Isso indica que não houve proliferação prévia de microrganismos aeróbios durante a  
449 exposição ao ar.

450 A proliferação microbiana é fortemente influenciada pela temperatura. Em épocas quentes  
451 comuns nos países de clima tropical, as altas temperaturas favorecem o crescimento de  
452 microrganismos deterioradores (Erickson et al., 2012). Altas contagens de leveduras têm sido  
453 observadas a 30°C (Ashbell et al., 2002) e a 37 °C (Pitt; Muck, 1993). Para os fungos a  
454 temperatura ótima para crescimento situa-se entre 25 a 35°C. Tendo em vista as condições de  
455 temperatura registradas durante a exposição das silagens ao ar (Tabela 1), não houve

456 crescimento desses microrganismos, logo, não ocorreu a deterioração aeróbia do material. Em  
457 estudo com silagem de milho exposta ao ar por até 336 horas durante o inverno com registro  
458 de temperaturas negativas não houve deterioração e os resultados indicaram que as silagens  
459 poderiam ser transportadas por até 120 horas (Erickson et al., 2012).

460 O pH também exerce forte influência no crescimento microbiano. Apesar das leveduras  
461 crescerem em ambientes ácidos, a taxa de crescimento é reduzida em 80% nessas condições  
462 (Pitt; Muck, 1993). Já os fungos não toleram condições ácidas e o pH ótimo para crescimento  
463 é acima de cinco (Muck, 2010; Pahlow et al., 2003). As silagens neste trabalho provavelmente  
464 não apresentaram valores de pH acima de cinco no momento em que foram expostas ao ar.  
465 Esta afirmação pode ser feita tendo em vista a boa qualidade da fermentação observada. Além  
466 disso, os fungos demoram a crescer em silagens. Gerlach et al. (2013) relataram contagem  
467 significativa de fungos em torno de oito dias após exposição ao ar.

468 A estabilidade aeróbia foi semelhante nas silagens não tratadas e tratadas com inoculante.  
469 A queda do pH a valores próximo de quatro durante a fermentação bem como a velocidade  
470 com que ocorreu pode ter inibido a atividade da bactéria *Propionibacterium acidipropionici*.  
471 Em condições ácidas, Filya et al. (2006) relataram que essa bactéria não sobreviveu, logo, não  
472 produziu ácido propiônico, não alterou a população de leveduras e fungos e não prolongou a  
473 estabilidade aeróbia em silagens de milho e sorgo. A maior estabilidade aeróbia das silagens  
474 reensiladas provavelmente ocorreu em função dos maiores teores dos ácidos acético e  
475 propiônico. Embora não se observou diferença estatística na contagem de microrganismos,  
476 esses ácidos são efetivos no combate a leveduras e fungos e tendem a aumentar a estabilidade  
477 aeróbia (McDonald et al., 1991; Muck, 2010). Correlação positiva foi observada entre a  
478 estabilidade aeróbia e as perdas por efluentes ( $R_{\text{ESTABIL}} \times \text{PEREFLU} = 0,77$ ;  $p < 0,0001$ ). A maior  
479 perda por efluentes nas silagens reensiladas pode ter diminuído a disponibilidade de  
480 carboidratos solúveis e de ácido lático para crescimento de microrganismos. Dessa forma,

481 também contribuiu para o aumento da estabilidade aeróbia das silagens reensiladas. No  
482 contexto geral, as silagens deste experimento ficaram estáveis por um longo período (seis dias  
483 - 144 horas) quando comparado aos resultados da literatura para silagens de sorgo sem  
484 inoculantes que foi de 43 horas no trabalho de Tabacco et al. (2011) e de 25,37 a 59,56 horas  
485 no trabalho de Thomas et al. (2013).

486 A contagem de leveduras e fungos no momento em que as silagens perderam a estabilidade  
487 aeróbia extrapolou os valores mínimos relatados por Pitt et al. (1991) para redução da  
488 qualidade de silagens ( $10^8$ UFC g<sup>-1</sup> e  $10^6$  UFC g<sup>-1</sup>, respectivamente). A atividade desses  
489 microrganismos leva à oxidação do ácido lático e a produção de dióxido de carbono, água,  
490 aumento da temperatura e do pH (McDonald et al., 1991). A alteração do pH ao longo dos  
491 dias de avaliação da estabilidade aeróbia refletiu o consumo de ácido lático das silagens. O  
492 aumento dos valores iniciou quando as silagens perderam a estabilidade. A ausência de  
493 atuação do inoculante pode ser justificada pela morte das bactérias propiônicas, assim como a  
494 exposição ao ar durante a reensilagem não favoreceu o crescimento prévio dos  
495 microrganismos.

496 A decisão de adquirir silagens e as reensilar na propriedade deve levar em consideração as  
497 condições climáticas que o material será submetido enquanto estiver exposto ao ar. A  
498 reensilagem em dias em que as temperaturas são mais baixas tendem a apresentar menores  
499 perdas, no entanto, a queda na digestibilidade é um aspecto importante. Já a reensilagem em  
500 dias quentes e ensolarados podem favorecer a diminuição na qualidade das silagens. A  
501 utilização de inoculantes com bactérias lácticas e propiônicas em silagens reensiladas a  
502 princípio não melhora a qualidade nutricional bem como não reduz as perdas.

503

504

505 **CONCLUSÕES**

506 A reensilagem de sorgo após 24 horas de exposição ao ar promoveu maior perda por efluentes  
507 e menor digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens.

508 O uso de inoculantes contendo bactérias lácticas homofermentativas e bactéria propiônica  
509 não influenciou a qualidade das silagens de sorgo.

510

511 **REFERÊNCIAS**

512 AOAC (1995) *Official methods of analysis* 16th edn. Arlington, VA, USA: Association of  
513 Official Analytical Chemists.

514

515 ASHBELL G., WEINBERG Z.G., HEN Y. and FILYA I. (2002) The effects of temperature  
516 on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Indian Microbiology and*  
517 *Biotechnology*, **28**, 261–263.

518

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

521

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

525

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

529

- 530 FILYA I., SUCU E. and KARABULUT A. (2006) The effects of *Propionibacterium*  
531 *acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and  
532 aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal Industrial*  
533 *Microbiology and Biotechnology*, **33**, 353–358.
- 534
- 535 GERLACH K., ROB F., WEIB K., BÜSCHER W. and SÜDEKUM, K. H. (2013) Changes in  
536 maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter  
537 intake by goats. *Agricultural and Food Science*, **22**, 168-181.
- 538
- 539 HOLDEN L.A. (1999) Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten  
540 feeds. *Journal of Animal Science*, **68**, 3832-3842.
- 541
- 542 MCDONALD P., HENDERSON A.R. and HERON S.J.E. (1991) *The biochemistry of silage*  
543 2nd edn. Aberystwyth, UK: Chalcombe Publications.
- 544
- 545 MOHAMMADZADEH H., KHORVASH M., GHORBANI G.R. and YANG W.Z. (2012)  
546 Frosted corn silage with or without bacterial inoculants in dairy cattle ration. *Livestock*  
547 *Science*, **145**, 153-159.
- 548
- 549 MUCK R.E. (2010) Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira*  
550 *de Zootecnia*, **39**, 183-191.
- 551
- 552 OLIVEIRA L.B., PIRES A.J., CARVALHO G.G.P., RIBEIRO L.S.O., ALMEIDA V.V. and  
553 PEIXOTO C.A.M. (2010) Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo sudão, sorgo  
554 forrageiro e girassol. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **39**,61-67.

- 555
- 556 PAHLOW G., MUCK R.E., DRIEH U I S F. and OUDE EL FERINK S.J.W.H. (2003)
- 557 Microbiology of ensiling. In: Buxton D.R., Muck R.E. and Harrison J.H. (eds), *Silage*
- 558 *science and technology*. Agronomy monograph, no. 42, pp.31–94. Madison, WI, USA:
- 559 American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science
- 560 Society of America, Inc.
- 561
- 562 PIRES D.A.A., GUIMARÃES JÚNIOR R., JAYME D.G., GONÇALVES L.C.,
- 563 RODRIGUES J.A.S., RODRÍGUEZ N.M., BORGES I., BORGES A.L.C. and JAYME
- 564 C.G. (2006) Qualidade e valor nutritivo das silagens de três híbridos de sorgo (*Sorghum*
- 565 *bicolor* L.) colhidos em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de Milho e*
- 566 *Sorgo*, **5**, 241-256.
- 567
- 568 PITT J.I. and HOCKING A.D. (2009) *Fungi and food spoilage*. Vol. 519. New York:
- 569 Springer.
- 570
- 571 PITT R.E. and MUCK R.E. (1993) A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed
- 572 face of bunker silos. *Journal of Agricultural Engineering Research*, **55**, 11-26.
- 573
- 574 PITT R.E., MUCK R.E. and PICKERING N.B. (1991) A model of aerobic fungal growth in
- 575 silage. 2. Aerobic stability. *Grass and Forage Science*, **46**, 301-312.
- 576
- 577 SANTOS A.O., ÁVILA C.L.S. and SCHWAN R.F. (2013) Selection of tropical lactic acid
- 578 bacteria for enhancing the quality of maize silage. *Journal of Dairy Science*, **96**, 7777-
- 579 7789.

- 580
- 581 SILVA D.J. and QUEIROZ A.C. (2002) *Análise de Alimentos (métodos químicos e*  
582 *biológicos)* 3rd ed. Viçosa: UFV.
- 583
- 584 TABACCO E., RIGHI F., QUARANTELLI A. and BORREANI G. (2011) Dry matter and  
585 nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by  
586 different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Dairy Science*, **94**, 1409–1419.
- 587
- 588 THOMAS M.E., FOSTER J.L., MCCUISTION K.C., REDMON L.A. and JESSUP W.  
589 (2013) Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of  
590 sorghum silage treated with inoculants. *Journal of Dairy Science*, **96**, 7120–7131.
- 591
- 592 TILLEY J.M.A. and TERRY R.A. (1963) A two-stage technique for the “in vitro” digestion  
593 of forage crops. *Journal of British Grassland Society*, **18**, 104-111.
- 594
- 595 VAN SOEST P.J., ROBERTSON J.B. and LEWIS B.A. (1991) Methods for dietary fiber,  
596 neutral detergent and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of*  
597 *Dairy Science*, **74**, 3583-3597.
- 598
- 599 ZHANG C., BRANDT M.J., SCHWAB C. and GÄNZLE, M.G. (2010) Propionic acid  
600 production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in  
601 sourdough. *Food Microbiology*, **27**, 390-395.
- 602

603 ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Aditivos microbiológicos em silagens  
604 no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista**  
605 **Brasileira de Zootecnia**, v. 38, supl. especial, p.170-189, 2009.  
606  
607



**ANEXO I**  
**Coefficientes de correlação de Pearson**

Inocul\_Reensilagem - Pedro Michel - Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 03FEV2016 1  
correlação 17:51 Thursday, February 3, 2000

The CORR Procedure

29 Variables:	MS	CINZAS	PB	PIDN_MS	PIDA_MS	
EE	FDN	FDN_CP	FDA	FDA_CP	LIGNINA	
pH	NH3	LAT	ACE	Prop	BUT	
DIVMS	ESTABIL	CNF	PERGAS	PEREFLU	PERTOT	PCA
	TGY	DRBC	PCAQUEB	TGYQUEB	DRBCQUEB	

Simple Statistics

Variable	N	Mean	Std Dev	Sum	Minimum	Maximum
MS	20	24.72600	0.91953	494.52000	22.73000	25.93000
CINZAS	20	4.41000	0.20406	88.20000	4.07000	5.01000
PB	20	6.70650	0.25553	134.13000	6.13000	7.26000
PIDN_MS	20	2.20750	0.20026	44.15000	1.84000	2.59000
PIDA_MS	20	1.23000	0.18686	24.60000	0.86000	1.60000
EE	20	3.15000	0.37055	63.00000	2.48000	3.74000
FDN	20	60.64950	2.63735	1213	55.53000	65.88000
FDN_CP	20	57.19550	2.53375	1144	52.30000	62.36000
FDA	20	33.41300	1.74643	668.26000	29.70000	36.85000
FDA_CP	20	31.37600	1.64952	627.52000	28.07000	34.76000
LIGNINA	20	3.81250	1.09176	76.25000	1.85000	6.35000
pH	20	4.01000	0.26390	80.20000	3.67000	4.54000
NH3	20	7.85650	1.56495	157.13000	5.33000	12.14000
LAT	20	3.21800	1.46620	64.36000	1.14000	5.84000
ACE	20	1.56850	0.86085	31.37000	0.49000	3.49000
Prop	20	0.41750	0.29519	8.35000	0.09000	1.14000
BUT	20	0.86100	0.48214	17.22000	0.21000	2.12000
DIVMS	20	57.68150	2.90080	1154	53.12000	61.99000
ESTABIL	20	147.74500	57.97725	2955	72.40000	240.00000
CNF	20	28.53900	2.59777	570.78000	23.98000	33.92000
PERGAS	20	11.38300	3.79978	227.66000	6.45000	20.24000
PEREFLU	20	26.93300	10.83456	538.66000	10.47000	50.83000
PERTOT	20	13.84450	3.86927	276.89000	9.19000	24.91000
PCA	20	52673475	151857140	1053469500	100.00000	670000000
TGY	20	14431615	44314476	288632300	100.00000	168000000
DRBC	20	72835	244258	1456700	100.00000	1100000
PCAQUEB	20	8597150005	1.97643E10	1.71943E11	100.00000	7.7E10
TGYQUEB	20	2.39356E10	3.73213E10	4.78712E11	100.00000	1.33E11
DRBCQUEB	20	9041420040	1.9511E10	1.80828E11	100.00000	7.7E10

Inocul\_Reensilagem - Pedro Michel - Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 03FEV2016 2  
correlação 17:51 Thursday, February 3, 2000

The CORR Procedure

Pearson Correlation Coefficients, N = 20  
Prob > |r| under H0: Rho=0

	MS	CINZAS	PB	PIDN_MS	PIDA_MS	EE	FDN	FDN_CP
MS	1.00000	-0.03097	0.04792	-0.45579	-0.16354	0.19100	-0.54115	-0.54486
		0.8969	0.8410	0.0434	0.4909	0.4199	0.0137	0.0130
CINZAS	-0.03097	1.00000	0.25556	0.24522	0.28448	0.18014	0.10559	0.08713
		0.8969	0.2768	0.2974	0.2241	0.4473	0.6577	0.7149
PB	0.04792	0.25556	1.00000	0.43806	-0.33685	-0.14413	0.21407	0.17579
		0.8410	0.2768	0.0534	0.1464	0.5444	0.3648	0.4585
PIDN_MS	-0.45579	0.24522	0.43806	1.00000	0.01941	-0.25583	0.46498	0.39932
		0.0434	0.2974	0.0534	0.9353	0.2763	0.0389	0.0811



761	LIGNINA	0.15570	0.16513	1.00000	0.14819	0.18385	0.01941	-0.23201	0.18558
762		0.5121	0.4866		0.5330	0.4378	0.9353	0.3250	0.4334
763									
764	pH	0.60369	0.60345	0.14819	1.00000	0.34039	-0.91542	0.12286	0.62740
765		0.0048	0.0048	0.5330		0.1420	<.0001	0.6058	0.0031
766									
767	NH3	0.32383	0.31395	0.18385	0.34039	1.00000	-0.03038	-0.36920	-0.14324
768		0.1637	0.1777	0.4378	0.1420		0.8988	0.1092	0.5469
769									
770	LAT	-0.57456	-0.57627	0.01941	-0.91542	-0.03038	1.00000	-0.39913	-0.77160
771		0.0081	0.0078	0.9353	<.0001	0.8988		0.0813	<.0001
772									
773	ACE	0.12279	0.11894	-0.23201	0.12286	-0.36920	-0.39913	1.00000	0.40194
774		0.6060	0.6175	0.3250	0.6058	0.1092	0.0813		0.0790
775									
776									

Inocul\_Reensilagem - Pedro Michel - Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 03FEV2016  
 correlaçao 17:51 Thursday, February 3, 2000

4

## The CORR Procedure

Pearson Correlation Coefficients, N = 20  
 Prob > |r| under H0: Rho=0

	BUT	DIVMS	ESTABIL	CNF	PERGAS	PEREFLU	PERTOT
785							
786							
787	MS	-0.63347	0.07682	0.10768	0.50199	-0.98512	0.12297
788		0.0027	0.7475	0.6514	0.0241	<.0001	0.6055
789							
790	CINZAS	-0.30117	-0.04302	-0.06190	-0.21385	-0.01616	0.06690
791		0.1969	0.8571	0.7955	0.3653	0.9461	0.7793
792							
793	PB	-0.13274	-0.13452	0.05122	-0.26897	-0.00425	0.17052
794		0.5769	0.5718	0.8302	0.2515	0.9858	0.4723
795							
796	PIDN_MS	0.12709	-0.34688	0.12602	-0.41620	0.44407	0.10585
797		0.5934	0.1340	0.5965	0.0680	0.0498	0.6569
798							
799	PIDA_MS	0.23818	-0.37833	0.27493	-0.09411	0.21196	0.03515
800		0.3119	0.1000	0.2407	0.6931	0.3696	0.8830
801							
802	EE	-0.42310	0.24262	-0.47485	-0.00908	-0.24619	-0.26193
803		0.0631	0.3027	0.0344	0.9697	0.2954	0.2646
804							
805	FDN	0.37343	-0.59472	0.07381	-0.97825	0.54976	0.02745
806		0.1048	0.0057	0.7571	<.0001	0.0120	0.9085
807							
808	FDN_CP	0.37884	-0.58186	0.07258	-0.97980	0.55440	0.02569
809		0.0995	0.0071	0.7611	<.0001	0.0112	0.9144
810							
811	FDA	0.44571	-0.63728	0.20479	-0.84035	0.56474	0.03347
812		0.0489	0.0025	0.3864	<.0001	0.0095	0.8886
813							
814	FDA_CP	0.45246	-0.63131	0.19063	-0.86027	0.57235	0.03388
815		0.0452	0.0028	0.4208	<.0001	0.0084	0.8872
816							
817	LIGNINA	0.15188	0.02811	-0.02607	-0.24620	0.62162	0.11109
818		0.5227	0.9064	0.9131	0.2954	0.0034	0.6410
819							
820	pH	0.59611	-0.64130	0.14443	-0.49475	0.55686	0.05194
821		0.0055	0.0023	0.5435	0.0266	0.0108	0.8278
822							
823	NH3	0.64353	0.21737	-0.11326	-0.26246	0.59103	-0.21162
824		0.0022	0.3573	0.6345	0.2636	0.0061	0.3704
825							
826	LAT	-0.33662	0.73571	-0.28869	0.47349	-0.32557	-0.23000
827		0.1467	0.0002	0.2171	0.0350	0.1613	0.3293
828							
829	ACE	-0.52295	-0.48617	0.22548	-0.23552	-0.32601	0.44062
830		0.0180	0.0297	0.3391	0.3175	0.1607	0.0518
831							
832							
833							

834 Inocul\_Reensilagem - Pedro Michel - Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 03FEV2016 5  
 835 correlaçao 17:51 Thursday, February 3, 2000

836  
 837 The CORR Procedure

838  
 839  
 840 Pearson Correlation Coefficients, N = 20  
 841 Prob > |r| under H0: Rho=0

	PCA	TGY	DRBC	PCAQUEB	TGYQUEB	DRBCQUEB	
842							
843							
844							
845	MS	-0.33671	0.22810	0.24807	-0.39407	-0.03770	-0.03105
846		0.1466	0.3334	0.2916	0.0856	0.8746	0.8966
847							
848	CINZAS	0.20428	0.73109	-0.12863	-0.16547	-0.25461	0.00204
849		0.3876	0.0003	0.5889	0.4857	0.2787	0.9932
850							
851	PB	-0.17201	0.07829	-0.10495	-0.01183	-0.11058	-0.00594
852		0.4684	0.7429	0.6597	0.9605	0.6426	0.9802
853							
854	PIDN_MS	0.38367	-0.13333	0.19759	0.16645	0.16076	0.03618
855		0.0949	0.5752	0.4037	0.4831	0.4984	0.8796
856							
857	PIDA_MS	0.18855	0.16483	0.01063	0.00925	0.24428	0.25220
858		0.4260	0.4874	0.9645	0.9691	0.2993	0.2834
859							
860	EE	0.28018	0.06775	0.06907	-0.33021	-0.09129	-0.22820
861		0.2315	0.7766	0.7723	0.1551	0.7019	0.3332
862							
863	FDN	0.17893	-0.07187	0.16581	0.46349	0.08799	0.00494
864		0.4504	0.7633	0.4848	0.0396	0.7122	0.9835
865							
866	FDN_CP	0.16390	-0.06673	0.14620	0.47343	0.07373	0.01077
867		0.4899	0.7798	0.5385	0.0350	0.7574	0.9641
868							
869	FDA	0.21621	-0.08381	0.14191	0.44076	0.17169	0.09166
870		0.3599	0.7254	0.5506	0.0518	0.4692	0.7007
871							
872	FDA_CP	0.21826	-0.09857	0.10409	0.46107	0.15324	0.05816
873		0.3553	0.6793	0.6623	0.0407	0.5189	0.8076
874							
875	LIGNINA	0.24825	-0.17808	-0.22479	0.47769	0.09160	0.06035
876		0.2913	0.4526	0.3407	0.0332	0.7009	0.8005
877							
878	pH	0.21924	-0.23377	-0.00218	0.33841	0.49057	-0.13176
879		0.3530	0.3212	0.9927	0.1444	0.0281	0.5798
880							
881	NH3	-0.06017	-0.07400	-0.36085	-0.04726	-0.01725	0.25992
882		0.8010	0.7565	0.1180	0.8432	0.9424	0.2684
883							
884	LAT	-0.21296	0.09134	-0.17246	-0.34747	-0.55815	0.28213
885		0.3673	0.7017	0.4672	0.1333	0.0105	0.2281
886							
887	ACE	0.17670	0.69537	0.21806	0.15957	0.10874	-0.18351
888		0.4561	0.0007	0.3557	0.5016	0.6481	0.4387
889							

890  
 891 Inocul\_Reensilagem - Pedro Michel - Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 03FEV2016 6  
 892 correlaçao 17:51 Thursday, February 3, 2000

893  
 894 The CORR Procedure

895  
 896 Pearson Correlation Coefficients, N = 20  
 897 Prob > |r| under H0: Rho=0

	MS	CINZAS	PB	PIDN_MS	PIDA_MS	EE	FDN	FDN_CP	
898									
899									
900									
901	Prop	-0.11977	-0.12005	0.15890	0.32237	0.28845	-0.25445	0.57549	0.56532
902		0.6150	0.6142	0.5034	0.1657	0.2174	0.2790	0.0079	0.0094
903									
904	BUT	-0.63347	-0.30117	-0.13274	0.12709	0.23818	-0.42310	0.37343	0.37884
905		0.0027	0.1969	0.5769	0.5934	0.3119	0.0631	0.1048	0.0995
906									
907	DIVMS	0.07682	-0.04302	-0.13452	-0.34688	-0.37833	0.24262	-0.59472	-0.58186
908		0.7475	0.8571	0.5718	0.1340	0.1000	0.3027	0.0057	0.0071
909									
910	ESTABIL	0.10768	-0.06190	0.05122	0.12602	0.27493	-0.47485	0.07381	0.07258



988	PCAQUEB	0.44076	0.46107	0.47769	0.33841	-0.04726	-0.34747	0.15957	0.63313
989		0.0518	0.0407	0.0332	0.1444	0.8432	0.1333	0.5016	0.0027
990									
991	TGYQUEB	0.17169	0.15324	0.09160	0.49057	-0.01725	-0.55815	0.10874	0.58109
992		0.4692	0.5189	0.7009	0.0281	0.9424	0.0105	0.6481	0.0072
993									
994	DRBCQUEB	0.09166	0.05816	0.06035	-0.13176	0.25992	0.28213	-0.18351	-0.10793
995		0.7007	0.8076	0.8005	0.5798	0.2684	0.2281	0.4387	0.6506
996									
997									

Inocul\_Reensilagem - Pedro Michel - Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 03FEV2016 8  
 correlaçao 17:51 Thursday, February 3, 2000

The CORR Procedure

Pearson Correlation Coefficients, N = 20  
 Prob > |r| under H0: Rho=0

	BUT	DIVMS	ESTABIL	CNF	PERGAS	PEREFLU	PERTOT
Prop	-0.03837 0.8724	-0.62431 0.0033	0.41282 0.0705	-0.52179 0.0183	0.21372 0.3656	0.49519 0.0264	0.33062 0.1545
BUT	1.00000	-0.11048 0.6429	-0.07048 0.7678	-0.27240 0.2453	0.66000 0.0015	-0.40511 0.0764	0.53509 0.0151
DIVMS	-0.11048 0.6429	1.00000	-0.30507 0.1909	0.55002 0.0120	-0.15431 0.5160	-0.16975 0.4743	-0.18476 0.4355
ESTABIL	-0.07048 0.7678	-0.30507 0.1909	1.00000	-0.00316 0.9895	-0.03255 0.8917	0.77704 <.0001	0.18923 0.4243
CNF	-0.27240 0.2453	0.55002 0.0120	-0.00316 0.9895	1.00000	-0.50400 0.0235	-0.00957 0.9681	-0.47372 0.0349
PERGAS	0.66000 0.0015	-0.15431 0.5160	-0.03255 0.8917	-0.50400 0.0235	1.00000	-0.05058 0.8323	0.95922 <.0001
PEREFLU	-0.40511 0.0764	-0.16975 0.4743	0.77704 <.0001	-0.00957 0.9681	-0.05058 0.8323	1.00000	0.22785 0.3340
PERTOT	0.53509 0.0151	-0.18476 0.4355	0.18923 0.4243	-0.47372 0.0349	0.95922 <.0001	0.22785 0.3340	1.00000
PCA	0.07569 0.7511	-0.30526 0.1906	-0.11344 0.6339	-0.19975 0.3985	0.31363 0.1781	-0.08066 0.7353	0.28081 0.2304
TGY	-0.41164 0.0713	-0.09407 0.6932	0.18421 0.4369	-0.00907 0.9697	-0.24397 0.2999	0.35886 0.1202	-0.13154 0.5804
DRBC	-0.24277 0.3024	-0.27346 0.2434	0.00861 0.9712	-0.13216 0.5786	-0.24688 0.2940	-0.00843 0.9718	-0.23423 0.3202
PCAQUEB	0.07887 0.7410	-0.34042 0.1419	0.16736 0.4806	-0.40092 0.0798	0.42679 0.0606	0.32437 0.1629	0.50758 0.0223
TGYQUEB	0.08753 0.7137	-0.16429 0.4888	0.13550 0.5689	-0.02831 0.9057	0.10519 0.6590	0.30397 0.1926	0.19604 0.4075
DRBCQUEB	0.07423 0.7558	0.09312 0.6962	0.03847 0.8721	0.02335 0.9222	0.00331 0.9890	-0.15091 0.5254	-0.03119 0.8962

Inocul\_Reensilagem - Pedro Michel - Diogo - Danilo G Bastos EVUFMG 03FEV2016 9  
 correlaçao 17:51 Thursday, February 3, 2000

The CORR Procedure

Pearson Correlation Coefficients, N = 20  
 Prob > |r| under H0: Rho=0

	PCA	TGY	DRBC	PCAQUEB	TGYQUEB	DRBCQUEB
Prop	-0.05731 0.8103	-0.15580 0.5119	0.31136 0.1815	0.63313 0.0027	0.58109 0.0072	-0.10793 0.6506

1065							
1066	BUT	0.07569	-0.41164	-0.24277	0.07887	0.08753	0.07423
1067		0.7511	0.0713	0.3024	0.7410	0.7137	0.7558
1068							
1069	DIVMS	-0.30526	-0.09407	-0.27346	-0.34042	-0.16429	0.09312
1070		0.1906	0.6932	0.2434	0.1419	0.4888	0.6962
1071							
1072	ESTABIL	-0.11344	0.18421	0.00861	0.16736	0.13550	0.03847
1073		0.6339	0.4369	0.9712	0.4806	0.5689	0.8721
1074							
1075	CNF	-0.19975	-0.00907	-0.13216	-0.40092	-0.02831	0.02335
1076		0.3985	0.9697	0.5786	0.0798	0.9057	0.9222
1077							
1078	PERGAS	0.31363	-0.24397	-0.24688	0.42679	0.10519	0.00331
1079		0.1781	0.2999	0.2940	0.0606	0.6590	0.9890
1080							
1081	PEREFLU	-0.08066	0.35886	-0.00843	0.32437	0.30397	-0.15091
1082		0.7353	0.1202	0.9718	0.1629	0.1926	0.5254
1083							
1084	PERTOT	0.28081	-0.13154	-0.23423	0.50758	0.19604	-0.03119
1085		0.2304	0.5804	0.3202	0.0223	0.4075	0.8962
1086							
1087	PCA	1.00000	0.20607	0.00885	-0.15530	0.08457	-0.16405
1088			0.3834	0.9705	0.5132	0.7230	0.4895
1089							
1090	TGY	0.20607	1.00000	-0.10197	-0.14866	-0.21901	-0.14842
1091		0.3834		0.6688	0.5316	0.3536	0.5323
1092							
1093	DRBC	0.00885	-0.10197	1.00000	-0.10494	0.27761	-0.07710
1094		0.9705	0.6688		0.6597	0.2360	0.7466
1095							
1096	PCAQUEB	-0.15530	-0.14866	-0.10494	1.00000	0.19785	0.12981
1097		0.5132	0.5316	0.6597		0.4031	0.5854
1098							
1099	TGYQUEB	0.08457	-0.21901	0.27761	0.19785	1.00000	-0.17173
1100		0.7230	0.3536	0.2360	0.4031		0.4691
1101							
1102	DRBCQUEB	-0.16405	-0.14842	-0.07710	0.12981	-0.17173	1.00000
1103		0.4895	0.5323	0.7466	0.5854	0.4691	