

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

**EFEITO DA REENSILAGEM E DO USO DE INOCULANTE
BACTERIANO NA SILAGEM DE MILHO**

MATEUS MERLO COELHO

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG
2017

Mateus Merlo Coelho

**ESTABILIDADE AERÓBIA, CONTAGEM
MICROBIOLÓGICA E QUALIDADE DE SILAGENS DE MILHO
REENSILADAS COM USO DE INOCULANTE BACTERIANO**

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

Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária - UFMG
2017

Tese defendida e aprovada em 24 de fevereiro de 2017.

Comissão examinadora:

Prof. Diogo Gonzaga Jayme
Orientador

Prof. Cristiano Gonzaga Jayme

José Avelino dos Santos Rodrigues

DEDICATÓRIA

À minha família, principalmente aos meus pais, Vanusa Merlo Nunes Coelho e Ricardo Nunes Coelho, por serem o esteio de minha vida;

AGRADECIMENTOS

Ao professor Diogo Gonzaga Jayme, pela oportunidade, pelos ensinamentos e pela confiança em mim depositada;

Ao professor Lúcio Carlos Gonçalves, pelos grandes ensinamentos;

Ao pesquisador José Avelino pela atenção, presteza e por todo suporte na execução deste trabalho;

À professora Kelly, por ceder o laboratório e pela prontidão em ajudar;

Aos funcionários do LabNutri, Toninho e Fabiana, pela ajuda na execução das análises;

Aos meus pais, por me darem condições de concluir essa etapa;

Ao meu irmão, Felipe, pela convivência todos esses anos e pelo carinho;

À Ana Paula, por ser companheira em todos os momentos, pela paciência, amor e carinho que me concedeu nesses anos;

A toda minha família, pela união que nos traz força;

Aos amigos Gustavo, Ottoni e Pedro por toda ajuda durante a fase experimental;

Ao grupo de Forragicultura e Alimentos pela contribuição na realização deste projeto e pelos bons momentos vividos;

Aos amigos da Escola de Veterinária, pela convivência ao longo desta etapa;

À Escola de Veterinária da UFMG, pelos grandes conhecimentos e grande vivência a mim proporcionados durante esses anos;

À Embrapa Milho e Sorgo, pela execução da parte de campo deste projeto;

A todos que de alguma forma participaram na execução deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 O milho e suas características.....	10
2.2 Silagem de milho: qualidade fermentativa e valor nutritivo.....	11
2.3 Perdas de matéria seca, estabilidade aeróbia e flora microbiana implicada	13
2.4 Uso de inoculantes bacterianos em silagens de milho.....	15
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
4. ARTIGO CIENTÍFICO.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros fermentativos das silagens de milho reensiladas com a utilização de inoculante.....	39
Tabela 2 - Composição química e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca das silagens de milho reensiladas com a utilização de inoculante.....	40
Tabela 3 - Perdas de matéria seca por gases, efluentes e total das silagens de milho reensiladas com a utilização de inoculante.....	41
Tabela 4 - Estabilidade aeróbia e contagem microbiológica na abertura do silo e na perda de estabilidade aeróbia das silagens de milho reensiladas com a utilização de inoculante.....	42

LISTA DE ABREVIACÕES

CNF	Carboidratos não fibrosos
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DRBC	Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar
EE	Extrato etéreo
FDA	Fibra insolúvel em detergente ácido
FDAcP	Fibra insolúvel em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
FDNcP	Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína
MS	Matéria seca
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
NT	Nitrogênio total
PB	Proteína bruta
PCA	Ágar contagem padrão

PIDA	Proteína insolúvel em detergente ácido
PIDN	Proteína insolúvel em detergente neutro
RE	Material reensilado
SIL	Material somente ensilado
TGY	Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar
UFC	Unidades formadoras de colônia

RESUMO

O milho é definitivamente a planta mais utilizada no Brasil e no mundo para a produção de silagens. A silagem de milho é um volumoso de extrema importância no país, principalmente no período seco do ano, quando há escassez de forragem. A variabilidade climática e a falta de eficiência técnica fazem com que muitas fazendas não consigam produzir e tenham que comprar esse alimento para seus animais. No entanto, pouco se conhece sobre as consequências desse processo de transferência da silagem entre propriedades. Com isso, objetivou-se aferir os efeitos da reensilagem com uso de inoculante bacteriano sobre a qualidade da silagem de milho. O híbrido BRS 1055 foi ensilado com inoculante à base de *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*, posteriormente desensilado e exposto ao ar por 36 horas, quando foi reensilado. O experimento foi delineado em arranjo fatorial 2 x 2, com as variáveis sendo o uso do inoculante e a reensilagem. Foram avaliadas as variações nos padrões fermentativos, nos parâmetros nutricionais, nas perdas de matéria seca e na contagem microbiana das silagens. A reensilagem resultou em aumento no pH e nas concentrações dos ácidos acético e propiônico. Assim como aumentou os teores de MS, PB, FDN e FDNcp. Em contrapartida, houve redução na concentração de CNF e na DIVMS com a reensilagem. Todas essas alterações foram explicadas pela maior produção de efluentes e perda de MS no material reensilado, que sofreu duas compactações. A microbiota não foi alterada pelos tratamentos. Assim como, a utilização de inoculante bacteriano não influenciou nenhum dos aspectos avaliados, com exceção do aumento na concentração de cinzas. Já, a reensilagem, após 36 horas de exposição aeróbia, provocou redução no valor nutritivo da silagem de milho e acentuou as perdas de MS.

Palavras-chave: Reensilagem, volumoso, microbiologia, valor nutritivo, deterioração aeróbia

ABSTRACT

Corn is definitely the most used plant in Brazil and the world for the silage production. Corn silage is an extremely important bulky in the country, especially in the dry season of the year, when there is a shortage of forage. Climatic variability and lack of technical efficiency mean that many farms cannot produce and have to buy this feed for their animals. However, little is known about the consequences of this process of transfer of silage between properties. The objective of this study was to evaluate the effects of re-ensiling with the use of bacterial inoculant on the quality of corn silage. The hybrid BRS 1055 was ensiled with inoculant based on *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici*, after removed from the silo and exposed to air for 36 hours, when it was re-ensiled. The experiment was delineated in a 2 x 2 factorial design, with the variables being inoculant use and re-ensilage. Changes in fermentation patterns, nutritional parameters, dry matter losses and microbial counts of the silages were tested. Re-ensiling resulted in increased pH and concentrations of acetic and propionic acids. As well as increased the contents of DM, CP, NDF and NDFap. On the other hand, there was a reduction in NFC concentration and in IVDMD with re-ensilage. All of these changes were explained by the higher effluent production and loss of DM in the re-ensiled material, which experience two compactations. Microbiology was not altered by the treatments. Likewise, the use of bacterial inoculant did not influence any of the evaluated aspects, except for the increase in ash concentration. Already, the re-ensilage, after 36 hours of aerobic exposure, caused a reduction in the nutritive value of corn silage and accentuated losses of DM.

Key-words: Re-ensiling, bulky, microbiology, nutritive value, aerobic deterioration

1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira tem grande expressividade mundial. No entanto ela convive historicamente com períodos de safra e entressafra na produção de leite e carne. A razão primordial para essa diferenciação, é a estacionalidade na produção de forragens, aliada à falta de planejamento forrageiro por parte dos pecuaristas.

O armazenamento de forragens de qualidade para o período seco do ano é uma alternativa para o impedimento da queda de produção nesse período. Dentre os diversos modos de armazenamento de volumosos, a ensilagem se destaca por sua baixa exigência de maquinário e eficiência na conservação dos alimentos. Esse processamento envolve o corte da forragem no campo, sua deposição nos silos, compactação desse material e vedação. Isto porque a conservação exige um meio anaeróbio.

Apesar de o conhecimento da técnica de ensilagem ser amplamente difundido, ainda há produtores rurais que não conseguem atingir a produção necessária de forragem conservada para a seca. Nessa situação, eles se veem forçados a vender animais ou a comprar alimentos. Assim, a aquisição de silagem de terceiros tem se tornado uma ação cotidiana. Como o milho é o vegetal mais utilizado para a confecção de silagens no Brasil, ele também é o mais envolvido em comercializações.

O grande empecilho da negociação de silagem é que ela exige um meio anaeróbio. Porém, a silagem comprada é retirada do silo, transportada em exposição ao ar e reensilada na fazenda do comprador. Essa reensilagem, por envolver exposição ao oxigênio, pode gerar perdas de matéria seca, afetar a estabilidade aeróbia da silagem e alterar o valor nutritivo da mesma.

A utilização de inoculante bacteriano pode auxiliar na manutenção da qualidade do material reensilado, por impedir o crescimento de microorganismos indesejáveis. No entanto, escassos são os relatos na literatura sobre a reensilagem de forrageiras e o uso de inoculante nesse processo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O milho e suas características

O milho (*Zea Mays*) é um cereal cultivado e utilizado na alimentação humana e animal em grande parte do mundo. Segundo Roney e Hard (2009), o cultivo dessa planta se iniciou há mais de 7000 anos na América Central, norte da América do Sul e sul do México. No Brasil, o

34 cereal era utilizado pelos índios, mas seu uso foi intensificado após a chegada dos europeus no
35 país. De acordo com a CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), na safra 2015/2016,
36 o Brasil produziu aproximadamente 67 milhões de toneladas de grãos de milho e a cultura
37 ocupou quase 16 milhões de hectares no país.

38 O milho é uma planta de metabolismo C4, que lhe confere alta eficiência na utilização de
39 luz e CO₂ durante o processo de fotossíntese (Magalhães et al., 1995). A cultura de milho prefere
40 áreas de solo com textura média a argilosos, com precipitações entre 500 e 800 mm durante o
41 ciclo da cultura, para que haja alta produtividade. É possível que a lavoura se desenvolva com
42 pelo menos 350mm de chuva, desde que não haja escassez hídrica nos momentos de maior
43 necessidade, como no período que vai da iniciação floral à maturação (Landau et al., 2010).

44 A lavoura de milho contém entre 40.000 e 60.000 plantas/ha. Populações acima ou abaixo
45 desses valor, normalmente, refletem baixos rendimentos da cultura. A produtividade é um dos
46 fatores que fazem dessa espécie a mais utilizada pelos produtores de leite no Brasil para
47 ensilagem (Bernardes e Rêgo, 2014). Oliveira et al. (2003), ao avaliarem a produção de matéria
48 seca de diversos híbridos de milho na região Sudeste brasileira, encontraram valores entre 8,5
49 e 18,8 t ha⁻¹.

50 O híbrido BRS 1055 é um híbrido simples, lançado em 2010, que na safra 2008/2009
51 ficou situado entre os mais produtivos da EMBRAPA (8984 Kg de grãos/ha). Seu ciclo é
52 semiprecoce, com grãos semidentados. Caracteriza-se por ser resistente ao acamamento e às
53 pragas foliares. Tem estabilidade de produção, alta prolificidade e é indicado para a produção
54 de silagens por sua produtividade e excelente digestibilidade (Guimarães et al., 2009).

55

56 **2.2 Silagem de milho: qualidade fermentativa e valor nutritivo**

57 A ensilagem é um processo de conservação de forragens em meio ácido, produzido por
58 fermentação anaeróbia. Neste processo, os ácidos produzidos pela fermentação de substratos
59 presentes na planta reduzem o pH da massa ensilada, inibindo a ação de enzimas e de
60 microrganismos capazes de promover a sua deterioração (Tomich et al., 2003).

61 A produção de silagem de alta qualidade exige a colheita da planta no momento ideal,
62 para favorecer o processo fermentativo e também produzir um alimento volumoso de bom valor
63 nutritivo. O milho é, tradicionalmente, a planta mais escolhida para ensilagem, pois apresenta
64 entre 30 e 35% de matéria seca, acima de 3% de carboidratos solúveis e baixa capacidade
65 tampão no momento da colheita (Nussio et al., 2001). Características imprescindíveis para uma
66 boa conservação do material ensilado.

67 Quando o material a ser ensilado detém as atribuições citadas acima e, além disso, é
68 cortado no tamanho de partícula ideal, bem compactado (Velho et al., 2007) e fechado de modo
69 que não permita entrada de ar, há a prevalência de bactérias produtoras de ácido lático. Estas se
70 dividem em dois grandes grupos: homofermentativas, utilizam substratos para produzir
71 exclusivamente ácido lático, e heterofermentativas, produzem, além de ácido lático, ácido
72 acético e dióxido de carbono.

73 No início do processo de ensilagem, predominam as estirpes homofermentativas, mas,
74 após quatro dias, as heterofermentativas representam mais de 85% e essa relação se mantém
75 assim. Dentre as espécies lácticas, o *Lactobacillus plantarum* é a que coloniza o material de
76 forma mais rápida, tem a capacidade de fermentar uma ampla gama de substratos e sobreviver
77 em meios bastante ácidos (McDonald et al., 1991; Woolford e Pahlow, 1998). O crescimento
78 exponencial desses microrganismos, associado à alta produção de ácido lático, promovem
79 rápida e expressiva queda no pH dentro do silo, inibindo o crescimento de microrganismos
80 indesejáveis. Silagens com fermentação adequada apresentam concentração ácido láctica entre
81 6 e 8% e pH entre 3.8 e 4,2 (Ferreira, 2001).

82 O conteúdo de matéria seca, quando em níveis baixos, possibilita o desenvolvimento de
83 microrganismos indesejáveis, principalmente as bactérias do gênero *Clostridium spp.*
84 (McDonald et al., 1991). Essas bactérias causam proteólise do material ensilado, aumentando
85 as concentrações de N-amoniaco e ácido butírico, em detrimento de ácido lático. A
86 fermentação desse ácido a ácido butírico é a principal forma de deterioração da silagem
87 (Woolford e Pahlow, 1998). Assim, além de pH e concentração de lactato, é importante a
88 observação das concentrações de outros ácidos, butírico e acético, e também de nitrogênio
89 amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH₃/NT), para a avaliação da qualidade
90 fermentativa da silagem de milho. Tomich et al. (2003) consideram silagens de excelente
91 padrão fermentativo aquelas com concentração de até 2,5% de ácido acético e 0,1% de ácido
92 butírico. Lavezzo e Andrade (1994), citam como valores normais a variação de 0 a 12,5% N-
93 NH₃/NT.

94 Por outro lado, silagens de milho excessivamente secas dificultam a compactação do silo.
95 Isto, prejudica a retirada total de ar antes do fechamento do silo, permitindo a permanência de
96 grande quantidade de oxigênio em meio ao material ensilado. Este panorama é convidativo para
97 o desenvolvimento de microrganismos aeróbicos. Fungos, especialmente as leveduras, se
98 destacam pela iniciação da deterioração aeróbica da silagem, com conseqüente aumento do pH
99 (Pahlow et al., 2003; Tabacco et al., 2009) e da temperatura da silagem (Tabacco et al., 2009).

100 O acréscimo no pH do material afeta a conservação do mesmo. Por outro lado, o aumento de
101 temperatura provoca a ocorrência de Reação de Maillard, indisponibilizando parte da fração
102 protéica do milho para o animal (Van Soest, 1994).

103 A silagem de milho é um alimento classificado como volumoso, por possuir mais de 18%
104 de fibra bruta em sua composição (Gonçalves et al., 2009). Alguns aspectos químicos
105 analisados na silagem são relevantes para determinar a qualidade nutricional desse alimento.
106 Estes aspectos estão intimamente ligados com duas características da planta: proporção da
107 espiga na MS da planta inteira e digestibilidade da fração fibrosa de haste e folhas (Nussio e
108 Manzano, 1999). Silagens são ricas em fibras (FDN e FDA) e têm conteúdo de lignina
109 significativo, que estão relacionados com o consumo da dieta e digestibilidade do material no
110 trato gastrointestinal. Da mesma forma, a concentração proteica também influencia a
111 digestibilidade da silagem, o crescimento microbiano ruminal e pode representar menores ou
112 maiores gastos com alimentos concentrados na alimentação animal. A ensilagem de qualquer
113 material não melhora seu valor nutritivo, mas objetiva alterá-lo o mínimo possível. Filya (2004)
114 obteve valores de MS entre 21,1 e 42,0%, PB de 5,8 a 8,0%, FDN de 42,1 a 52,7%, FDA entre
115 23,9 e 33,7%, lignina de 2,1 a 4,0% e cinzas entre 3,8 e 4,4%, para silagens de milho em
116 diferentes estádios de maturação da planta.

117

118 **2.3 Perdas de matéria seca, estabilidade aeróbia e flora microbiana implicada**

119 Qualquer silagem de milho, mesmo as bem conservadas, apresentam perdas de MS
120 durante as diversas etapas, que vão desde a colheita e abastecimento do silo, até a abertura e
121 descarga do mesmo. Atenção especial deve ser dada às perdas ocorrentes durante o processo
122 fermentativo dentro do silo. Nesse momento, as perdas mais importantes a serem avaliadas são
123 as por gases e efluentes, além das perdas totais de MS (Jobim et al., 2007).

124 A produção de gases na silagem é regida pelo tipo de fermentação ocorrida durante a fase
125 anaeróbia. Silagens onde há maior presença de bactérias lácticas homofermentativas, as perdas
126 por gases são reduzidas. Por outro lado, bactérias lácticas heterofermentativas, enterobactérias e
127 clostrídios têm como subproduto fermentativo gás carbônico e também gás hidrogênio
128 (McDonald et al., 1991). Assim, além de afetar negativamente a queda do pH, as fermentações
129 promovidas por esses microrganismos acarretam maiores perdas de matéria seca do material
130 ensilado (Muck e Bolsen, 1991).

131 O volume de efluente produzido em um silo é influenciado por vários fatores, destacando-
132 se o teor de MS, tamanho de partícula, processamento, tipo de silo e compactação (Jobim et al.,

133 2007). Segundo Rotz e Muck (1994), os resultados de trabalhos sugerem que silagens contendo
134 80% de umidade perdem aproximadamente 40g/Kg de MS por efluentes. Além disso, forragens
135 cortadas mais novas e em tamanhos de partícula menores tendem a ter maior lise celular, com
136 conseqüente evasão de líquido e conteúdos celulares. Ao se associar alta umidade e pequena
137 partícula, tende-se a haver maior compactação do material no silo, com maior produção de
138 efluentes (Senger et al., 2005).

139 A nível de fazenda, Köhler et al. (2013) encontraram perdas de MS total entre 6 e 15%
140 em silagens de milho. Os autores concluíram, com este trabalho, que perdas até o limite de 8%
141 são inevitáveis, durante a estocagem do material, independentemente do tipo de forragem
142 ensilada. Por sua vez, Zanette et al. (2012) atestaram valores de perdas de MS de 11,87% para
143 silagem de milho com inoculante bacteriano e enzimático, 14,66% para silagem convencional
144 e 16,99% em silagens adicionadas de açúcar.

145 As perdas até então mencionadas se referem à déficits quantitativos na silagem e que
146 ocorrem durante a fase anaeróbia do processo. No entanto, a forragem também sofre prejuízos
147 quantitativos e qualitativos no momento da exposição ao ar. Esta ocorre, principalmente, nas
148 aberturas do silo para arraçamento ou para reensilagem. Mas também pode ser fruto do
149 fechamento errôneo do silo, do uso de lonas de alta permeabilidade (Bernardes et al., 2011) ou
150 de furos na lona.

151 As silagens apresentam resistência à deterioração aeróbia, característica esta chamada de
152 estabilidade aeróbia. É uma particularidade substancial para definição da qualidade e do valor
153 nutritivo da silagem, principalmente em regiões de clima quente (Ashbell et al., 2002).
154 Tecnicamente, a estabilidade aeróbia é definida pelo número de horas em que o material
155 desensilado leva para aumentar 2°C em relação à temperatura ambiente (Ranjit e Kung, 2000).

156 A estabilidade de silagens contra a deterioração aeróbia é variável. As silagens com bom
157 padrão fermentativo, maior concentração láctica, tendem a deteriorar mais rápido. Já, aquelas
158 com maior presença de bactérias heterofermentativas e produtoras de ácido acético e propiônico
159 são mais estáveis (Oude Elferink et al., 2001; Filya et al., 2004). Isso acontece, porque os
160 microrganismos principais responsáveis por causar este prejuízo à forragem são as leveduras e
161 fungos filamentosos, que são sensíveis a esses ácidos graxos voláteis. Por outro lado, fungos,
162 leveduras e algumas bactérias assimilam ácido láctico, quando em aerobiose (Pahlow et al.,
163 2003).

164 Essa situação implica em um dilema entre a busca pela silagem de melhor padrão
165 fermentativo ou a que mais resiste à espoliação aeróbia. Segundo Bernardes (2006), o conceito

166 que existia anteriormente de silagens com menos de 2,5% de acetato na MS, já não se aplica
167 mais. Deve-se procurar uma associação entre lactato e acetato.

168 O processo de deterioração aeróbia se inicia com o desenvolvimento de leveduras
169 assimiladoras de lactato, posteriormente vem a participação de fungos filamentosos. Isto porque
170 as leveduras são microrganismos anaeróbios facultativos e resistentes ao pH extremamente
171 ácido da silagem (McDonald et al., 1991). Enquanto os fungos necessitam de maior presença
172 de oxigênio. Pitt et al. (1991) citam que são necessárias 10^8 unidades formadoras de colônia
173 (UFC) de leveduras por grama de forragem e 10^6 UFC/g de silagem de fungos, para que haja
174 alguma alteração de qualidade na silagem. Porém, Tabacco et al. (2009) afirmaram que 10^5
175 UFC/g de silagem de leveduras já é o suficiente para o começo da deterioração aeróbia.

176 Esses microrganismos causam elevação do pH e da temperatura da silagem, com consumo
177 de carboidratos solúveis e lactato, resultando em aumento das perdas de MS (Woolford et al.,
178 1990). Soma-se o fato de que o material deteriorado é causa de redução do consumo e da
179 performance animal. Além disso, a elevação do pH abre portas para a disseminação de outras
180 espécies indesejáveis e potencialmente patogênicas (Lindgreen et al., 2002). Assim como, há
181 maior acúmulo de micotoxinas na silagem, que além de prejudicarem o desempenho produtivo,
182 podem ser maléficas à saúde dos animais e humana, através do consumo de produtos de origem
183 animal (Oldenburg, 1991; Tangni et al., 2013).

184

185 **2.4 Uso de inoculantes bacterianos em silagens de milho**

186 A utilização de inoculantes bacterianos na produção de silagens tem apresentado ao longo
187 do tempo resultados diversos, alguns positivos outros questionáveis. Muck e Kung (1997)
188 mostraram que a adição de bactérias ácido lácticas foi capaz de melhorar os padrões
189 fermentativos das silagens em 60% dos casos, diminuir a perda de MS em 35% dos trabalhos e
190 a digestibilidade da MS só foi ampliada em 30% das situações.

191 Os inoculantes bacterianos mais encontrados no mercado são constituídos de bactérias
192 homoláticas (destaque para a espécie *Lactobacillus plantarum*), bactérias heteroláticas
193 (principalmente *Lactobacillus buchneri*), bactérias ácido propiônicas (como a *Propionibacterium*
194 *acidipropionici*) e, principalmente, da associação de duas ou mais delas.

195 A utilização de cepas homofermentativas visam a melhoria dos parâmetros fermentativos,
196 principalmente o aumento das concentrações de ácido láctico e a rápida queda do pH (Costa et
197 al., 2001). São muito utilizadas em silagens com baixa concentração de carboidratos solúveis
198 (capins tropicais) ou em casos onde as condições de ensilagem não são favoráveis. Por outro

199 lado, como discutido anteriormente, as silagens inoculadas exclusivamente com homoláticas
200 tendem a ser mais frágeis à deterioração aeróbia (Kleinschmit et al., 2005).

201 É sabido que os ácidos graxos de cadeia curta, em especial propiônico e acético, são
202 deletérios ao desenvolvimento fúngico. Ocorre que em situações de pH baixo (silagem), esses
203 ácidos se encontram na forma indissociada e atravessam a membrana das células desses
204 microrganismos. Ao penetrarem no citoplasma celular encontram pH próximo de 7,0 e se
205 dissociam, aumentando a concentração de íon hidrogênio. Para manter a homeostase, o
206 microrganismos tenta bombear esses íons, gastando muita energia, o que atrasa seu
207 crescimento ou provoca morte celular (Davidson, 1997).

208 Nesse sentido, as pesquisas com bactérias heterofermentativas se desenvolveram, com
209 ênfase para o uso de *Lactobacillus buchneri*. A inoculação com essa bactéria visa o aumento
210 nas concentrações de ácido acético e acréscimos na estabilidade aeróbia, o que ficou provado
211 em diversos trabalhos analisados por (Kleinschmit e Kung, 2006). Estes autores fizeram uma
212 meta-análise de 26 experimentos com silagem de milho inoculada com *Lactobacillus buchneri*.
213 Os resultados apontaram para aumento nas concentrações de acetato, do pH e da estabilidade
214 aeróbia, além de redução de lactato e da contagem de leveduras.

215 Seguindo a mesma linha, o uso de bactérias ácido propiônicas pretende também reduzir
216 a população de leveduras e fungos filamentosos e estender a resistência à deterioração aeróbia.
217 Alguns trabalhos mostram a eficácia da utilização dessas bactérias na silagem de milho (Bolsen
218 et al., 1996; Dawson et al. 1998; Filya et al., 2004).

219 Com o tempo as pesquisas caminharam para a utilização da associação entre dois tipos
220 de bactérias, no intuito de usufruir das melhores características de cada e criar um sinergismo
221 entre elas (Muck, 2010). A associação entre *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium*
222 *acidipropionici* foi testada por Filya et al. (2004) em comparação com o uso das duas espécies
223 separadas ou sem inoculação. Observou-se que a associação elevou as concentrações de ácido
224 láctico, em relação à silagem não inoculada, mas não alterou a porcentagem de propionato, bem
225 como não surtiu efeito sobre a estabilidade aeróbia. No trabalho de Rowghani et al. (2008), com
226 a mesma associação, também não foi observada elevação nos níveis de ácido propiônico, porém
227 aconteceram menores perdas de MS em relação à silagem controle.

228 Filya et al. (2003) utilizaram a associação de *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus*
229 *buchneri*. Eles detectaram aumento nas concentrações de acetato e na estabilidade aeróbia, das
230 silagens de milho e sorgo com alta umidade, tanto no uso associado quanto na inoculação

231 exclusiva de *Lactobacillus buchneri*. Porém, a associação foi mais efetiva na recuperação de
232 MS da silagem.

233

234 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

235

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

239

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

243

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

246

247 BOLSEN, K.K.; BONILLA, D.R.; HUCK, G.L.; YOUNG, M.A. AND HART-THAKUR, R.A.
248 *Effect of propionic acid bacterial inoculant on fermentation and aerobic stability of whole-*
249 *plant corn silage*. In: Report of Progress of Kansas State University Agricultural Experiment
250 Station. pp. 78–81. Manhattan, KS: Kansas State University. 1996.

251

252 COSTA, C.; MONTEIRO, A.L.G.; BERTO, D.A. et al. *Impacto do uso de aditivos e/ou*
253 *inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens*. In:
254 SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1.,
255 2001, MARINGÁ. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.87-1

256

257 DAWSON, T.E.; RUST, R.S.; YOKOYAMA, M.T. *Improved fermentation and aerobic*
258 *stability of ensiled, high moisture corn with the use of Propionibacterium acidipropionici*.
259 Journal of Dairy Science 81, 1015–1021. 1998.

260

261 FERREIRA, J.J. *Estágio de maturação ideal para ensilagem do milho e do sorgo*. In: CRUZ,
262 J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; RODRIGUES, J.A.S. et al. (Eds.) *Produção e utilização de*
263 *silagem de milho e sorgo*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. p.405-428.

264 FILYA, I. *The effect of Lactobacillus buchneri and Lactobacillus plantarum on the*
265 *fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum*
266 *silages*. Journal of Dairy Science, 86(11):3575-81. 2003.

267

268 FILYA, I. *Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four*
269 *stages of maturity*. Animal Feed Science and Technology, v.116, p.141-150, 2004.

270

271 FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. *The effect of Propionibacterium acidipropionici, with*
272 *or without Lactobacillus plantarum, on the fermentation and aerobic stability of wheat,*
273 *sorghum and maize silages*. Journal of Applied Microbiology, Oxford, v. 97, n. 4, p. 818-826,
274 2004.

275

276 GONÇALVES, L. C. BROGES, I. FERREIRA, P. D. *Alimentos para gado de leite*. 1. ed. Belo
277 Horizonte: FEPMVZ, 2009. Cap 1. p. 1-6.

278

279 GUIMARÃES, P.E.O.; PARENTONI, S.N.; MEIRELLES, W.F.; PACHECO, C.A.P.; SILVA,
280 A.R.; GUIMARÃES, L.J.M.; CARDOSO, M.J.; ROCHA, L.M.P.; COSTA, R.V.; OLIVEIRA,
281 J.S.; COTA, L.V.; CARVALHO, H.W.L.; GODINHO, V.P.C.; CECCON, G.; MACHADO,
282 A.T.; BASTOS, E.A.; VILARINHO, A.A.; SOUZA, F.R.S.; DIAS, W.P.; EMGYDIO, B.M.;
283 GARCIA, J.C.; WRUCK, F.J.; CASELA, C.R. *BRS 1055 – Híbrido Simples de Milho*.
284 Comunicado Técnico, 176. Sete Lagoas. 2009.

285

286 JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. *Avanços metodológicos na*
287 *avaliação da qualidade da forragem conservada*. Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa, MG.
288 v. 36 (Suplemento especial), p. 101-119. 2007.

289

290 KLEINSCHMIT, D. H.; SCHMIDT, R. J.; KUNG JR., L. *The Effects of Various Antifungal*
291 *Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage*. Journal of Dairy Science,
292 v.88, p.2130-2139, 2005.

293

294 KLEINSCHMIT, D.H.; KUNG JR, L. *A Meta-Analysis of the Effects of Lactobacillus buchneri*
295 *on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn and Grass and Small-Grain Silages*. Journal
296 of Dairy Science Vol. 89 No. 10, 2006.

297 KÖHLER, B.; OSTERTAG, J.; THURNER, S.; SPIEKERS, H. *Dry matter losses of grass,*
298 *Lucerne and maize silages in bunker silos.* Agricultural and Food Science, v. 22, p. 145-150.
299 2013.
300

301 LANDAU, E. C.; TEIXEIRA, R. B.; GUIMARÃES, D. P.; HIRSCH, A. *Estimativa do Tempo*
302 *de Florescimento de Milho Plantado na Época de Safrinha: Modelagem Espacial Considerando*
303 *o Zoneamento de Riscos Climáticos.* Circular Técnica, 146. Sete Lagoas. 2010.
304

305 LAVEZZO, W.; ANDRADE, J.B. *Conservação de forragens: feno e silagem.* In: SIMPÓSIO
306 BRASILEIRO DE FORRAGENS E PASTAGENS, 1994, Campinas, SP. Anais... Campinas:
307 Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1994. p.105-166.
308

309 LINDGREEN, S.; OLDENBURG, E.; PAHLOW, G. *Influence of microbes and their*
310 *metabolites on feed and food quality.* In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN
311 GRASSLAND FEDERATION. **Proceedings.** p. 503-511. 2002.
312

313 MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M; PAIVA, E. *Fisiologia da planta de milho.* Circular
314 Técnica, 20. Sete Lagoas: Embrapa, 1995.
315

316 McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. *The Biochemistry of Silage.* 2. ed.
317 Chalcombe Publications, 1991.
318

319 MUCK, R.E.; BOLSEN, K.K.; *Silage preservation and silage additive products.* In: Field
320 Guide for Hay and Silage Management in North America. NFIA, p. 105-126. 1991.
321

322 MUCK, R. E. *Silage microbiology and its control through additives.* Revista Brasileira de
323 Zootecnia. Viçosa, MG. v. 39 (Suplemento especial), p. 183-191. 2010.
324

325 NUSSIO, L, G.; MANZANO, R,P. *Silagem de milho,* In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE
326 BOVINOS: ALIMENTAÇÃO SUPLEMENTAR, 7. Anais... Piracicaba, FEALQ, 1999. p,27-
327 46.
328

329 NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P. de; DIAS, F. N. *Importância da qualidade da porção*
330 *vegetativa no valor alimentício da silagem de milho*. In: Simpósio sobre produção e utilização
331 de forragens conservadas, Universidade Estadual de Maringá, 2001. p. 127-145.
332

333 OLDENBURG, E. *Mycotoxins in conserved forage*. In: PAHLOW, G.; HONIG, H. (Eds)
334 FORAGE CONSERVATION TOWARDS 2000. 1ed. Braunschweig: European Grassland
335 Federation, 1991. p. 191-205.
336

337 OLIVEIRA, J.S.; SOBRINHO, F.S.; PEREIRA, R.C.; MIRANDA, J.M.; BANYS, V.L.;
338 RUGGIERI, A.C.; PEREIRA, A.V.; LEDO, F.S.; BOTREL, M.A.; AUAD, M.V. *Potencial de*
339 *utilização de híbridos comerciais de milho para silagem, na região sudeste do brasil*. Revista
340 Brasileira de Milho e Sorgo, v.2, n.1, p.62-71, 2003.
341

342 OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J.C. et al. *Anaerobic*
343 *conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2- propanediol by Lactobacillus buchneri*.
344 Applied Environmental Microbiology, v.67, p.125-132, 2001.
345

346 PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; et al. *Microbiology of ensiling*. In: BUXTON,
347 D. R.; MUCK, R. E. HARRISON, J. H. (Ed). Silage science and technology. Madison:
348 American Society of Agronomy, 2003. (Monografia, 42).
349

350 RANJIT, N.K.; KUNG JR., L. *The effect of Lactobacillus buchneri, Lactobacillus plantarum,*
351 *or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage*. Journal of
352 Dairy Science, v.83, p.526-535, 2000.
353

354 RONEY, J., E R. HARD. *The beginnings of maize agriculture*. Archaeology Southwest, 23:4-
355 5. 2009.
356

357 ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. *Changes in forage quality during harvest and storage*. In: FAHEY
358 Jr., G.C.; MOSER, L.E.; MERTENS, D.R. et al. (Eds.) National conference on forage quality,
359 evaluation, and utilization. Madison: University of Nebraska, 1994.
360

361 ROWGHANI, E.; ZAMIRI, M.J.; KHORVASH, M.; ABDOLLAHIPANAH, A. *The effects of*
362 *Lactobacillus plantarum and Propionibacterium acidipropionici on corn silage fermentation,*
363 *ruminal degradability and nutrient digestibility in sheep.* Iranian Journal of Veterinary
364 Research, Shiraz University, Vol. 9, No. 4, Ser. No. 25, 2008.

365

366 SENGER, C.C.D.; MÜHLBACH, P.R.F.; SÁNCHEZ, L.M.B.; NETTO, D.P.; LIMA, L.D.
367 *Composição química e digestibilidade 'in vitro' de silagens de milho com distintos teores de*
368 *umidade e níveis de compactação.* Ciência Rural, v.35, n.6, nov-dez, 2005.

369

370 TABACCO, E., PIANO, S., CAVALLARIN, L., BERNARDES, T.F., AND BORREANI, B.
371 *Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as*
372 *influenced by Lactobacillus buchneri and Lactobacillus plantarum inoculants.* J. Appl.
373 Microbiol. 107: 1632–1641. 2009.

374

375 TANGNI, E.K., PUSSEMIER, L., AND VAN HOVE, F. *Mycotoxin contaminating maize*
376 *and grass silages for dairy cattle feeding: current state and challenges,* J. Anim. Sci.
377 Adv. 10: 492–511. 2013.

378

379 TOMICH, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; TOMICH, R.G.P.; BORGES, I.
380 *Características químicas para avaliação do processo fermentativo: uma proposta para*
381 *qualificação da fermentação.* Documentos, 57. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003.

382

383 VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant.* 2 ed. New York: Cornell University
384 Press, 1994. 476p.

385

386 VELHO, J.P.; MUHLBACH, P.R.F.; NORNBORG, J.L. et al. *Composição bromatológica de*
387 *silagens de milho produzidas com diferentes densidades de compactação.* Revista Brasileira de
388 Zootecnia, v.36, n.5, p.1532-1538, 2007.

389

390 WOOLFORD, M. K. *The detrimental effects of air on silage.* Journal of Applied Bacteriology.
391 Oxford, v. 26. p. 101-116, 1990.

392

393 WOOLFORD, M.K.; PAHLOW, G. *The silage fermentation*. In: Microbiology of fermented
394 foods. London: Blackie, B.J.B., (Ed), 73-102. 1998.

395

396 ZANETTE, P.M.; NEUMANN, M.; FARIA, M.V.; UENO, R.K.; MARAFON, F.; DURMAN,
397 T. *Valor nutricional e perdas durante a fermentação de silagens de milho (zea mays l.) com*
398 *açúcar ou inoculante*. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.11, n.2, p. 178-189, 2012.

399 **4. ARTIGO**

400

401 Artigo será submetido ao periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB), Qualis B1 para
402 Zootecnia. O manuscrito está no formato do periódico.

403

404 **Qualidade, estabilidade aeróbia e contagem microbiológica de silagens de milho**
405 **reensiladas com inoculante bacteriano**

406

407 Mateus Merlo Coelho⁽¹⁾, Lúcio Carlos Gonçalves⁽¹⁾, José Avelino Santos Rodrigues⁽²⁾, Kelly
408 Moura Keller⁽¹⁾, Gustavo Vinícius de Souza dos Anjos⁽¹⁾, Daniel Ottoni⁽¹⁾ e Pedro Henrique
409 Fulgêncio Michel⁽¹⁾, Diogo Gonzaga Jayme⁽¹⁾

410

411 ⁽¹⁾Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Departamento de Zootecnia,
412 Caixa Postal 567, CEP 31270-901, Belo Horizonte , MG. E-mail: merlocoelho@gmail.com,
413 luciocg@vet.ufmg.br, avelino.rodrigue@embrapa.br kelly.medvet@gmail.com,
414 gustavosouzavet@yahoo.com.br, daniel.ottoni@hotmail.com, phfmichel@gmail.com,
415 diogogj@gmail.com. Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas,
416 MG. E-mail: avelino.rodrigues@embrapa.br.

417

418 **Resumo** - Objetivou-se avaliar os efeitos da reensilagem e do uso de inoculante bacteriano
419 (associação de *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*) sobre a
420 qualidade da silagem de milho. O experimento foi delineado em um desenho fatorial 2x2, com
421 o uso ou não de inoculante e a reensilagem após 36 horas de exposição aeróbia ou somente a
422 ensilagem da planta inteira do cultivar de milho BRS 1055. Foram aferidos a qualidade
423 fermentativa, os parâmetros nutricionais, as perdas de matéria seca, a estabilidade aeróbia e a

424 contagem microbiológica dos materiais. A reensilagem provocou aumento no pH e nas
425 concentrações dos ácidos acético e propiônico. Assim como aumentou os teores de MS, PB,
426 FDN e FDNcp. Em contrapartida, houve redução na concentração de CNF e na DIVMS com a
427 reensilagem. Todas essas alterações foram explicadas pela maior produção de efluentes e perda
428 de MS no material reensilado, que sofreu duas compactações. A microbiologia não foi alterada
429 pelos tratamentos. A utilização de inoculante alterou o teor de cinzas do material, mas não
430 influenciou nos demais aspectos. Já, a reensilagem, após 36 horas de exposição aeróbia, provocou
431 redução no valor nutritivo da silagem de milho e acentuou as perdas de MS.

432

433 Termos para indexação: Reensilagem, deterioração aeróbia, perdas de matéria seca, aditivos

434

435

Introdução

436 Diversos estudos têm demonstrado que a silagem de milho é o volumoso mais utilizado na
437 suplementação de vacas de leite no Brasil (Costa et al., 2013; Bernardes & Rêgo., 2014). Assim
438 como apresenta viabilidade técnica e econômica nas dietas de confinamento de gado de corte
439 em determinadas regiões do país (Coan et al., 2008).

440 O conhecimento relacionado à implantação da lavoura, corte e ensilagem, com conservação
441 anaeróbia do material, é bem difundido em todo o território brasileiro. Porém, as variações
442 climáticas e a falta de planejamento forrageiro podem levar à necessidade de aquisição de
443 volumoso. Esse processo envolve a exposição da silagem ao oxigênio, durante a desensilagem
444 e transporte da forragem. Posteriormente, há a reensilagem do volumoso na propriedade de
445 destino.

446 Os estudos sobre os efeitos da reensilagem perante a qualidade de silagens de milho são restritos
447 e recentes (Chen and Weinberg, 2014; Lima et al., 2016). Estes trabalhos provaram que a
448 reensilagem pode ser feita sem prejuízos à qualidade químico-física do volumoso. Porém, a

449 excelência desse processo depende de diversos fatores, como a temperatura ambiente, a duração
450 do processamento (Kung Jr, 2010) e a presença de microrganismos aeróbios deterioradores.
451 As leveduras configuram-se como os microrganismos com maior potencial deteriorador, por
452 serem resistentes ao pH da silagem (3,8), terem rápido crescimento e utilizarem ácido lático
453 como substrato oxidativo. Os fungos filamentosos também exercem poder prejudicial à
454 silagem, apesar de apresentarem desenvolvimento mais lento e serem estritamente aeróbios
455 (Muck, 2010). Esses fungos, além de causarem danos à silagem, produzem micotoxinas,
456 potenciais redutoras de desempenho zootécnico e fonte de risco à saúde animal e humana
457 (Tangni et al., 2013).

458 A utilização de inoculantes microbianos tem sido feita há algum tempo, na tentativa de
459 minimizar os danos causados à silagem e maximizar a rentabilidade do produtor rural. Dentre
460 uma vasta gama de aditivos bacterianos, os mais indicados para promoção de controle do
461 desenvolvimento de microrganismos aeróbios indesejáveis são os compostos por bactérias
462 ácido-láticas heterofermentativas e bactérias ácido-propiónicas (Dunière et al., 2013).

463 Objetivou-se com este estudo avaliar a influência da reensilagem e do uso de aditivo microbiano
464 sobre as características físicas, químicas e microbiológicas da silagem de milho.

465

466

Material e Métodos

467

468 A lavoura de milho do cultivar BRS 1055 foi plantada em área experimental da Embrapa Milho
469 e Sorgo, situada em Sete Lagoas – Minas Gerais, com latitude 19°28'S, longitude 44°15'W e
470 altitude de 732 metros. O espaçamento utilizado foi de 70 cm entrelinhas e a adubação de
471 plantio foi feita com 400 kg/ha de 8-28-16 (NPK) + 0,5% Zn. Posteriormente, foram aplicados
472 100 kg de nitrogênio por hectare em cobertura na lavoura.

473 A colheita foi feita aos 110 dias de crescimento. Imediatamente antes da colheita, a lavoura foi
474 amostrada de forma aleatória colhendo-se cinco amostras de cinco metros lineares de plantas.
475 Contou-se o número de plantas, mediu-se a altura das plantas e aferiu-se o peso das plantas. O
476 resultado foi utilizado para cálculo de produtividade de massa verde. Foi observada
477 produtividade de 59,2 Ton/ha de matéria natural.

478 Posteriormente, a lavoura foi colhida, com tamanho de partícula entre um e dois centímetros.
479 A forragem picada foi amostrada para análise do material fresco e imediatamente depositada e
480 compactada manualmente nos silos experimentais. Estes eram baldes plásticos com capacidade
481 de armazenamento de 20L equipados com tampa provida de válvula tipo Bunsen para permitir
482 somente a saída de gases. No interior de cada balde foi colocado um saco de algodão, com
483 aproximadamente dois quilogramas de areia seca, para quantificação do efluente produzido.

484 As variáveis estudadas no experimento foram a aplicação de inoculante bacteriano na ensilagem
485 e a reensilagem após exposição do material ao ar por de 36 horas. Os tratamentos foram
486 arranjados em esquema fatorial 2 x 2, sendo o primeiro fator a aplicação ou não do inoculante
487 e o segundo a conservação por meio de ensilagem convencional ou realização da prática de
488 reensilagem. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com cinco repetições.

489 O inoculante utilizado foi composto pela bactéria homofermentativa *Lactobacillus plantarum*
490 MA 18/5U e pela bactéria propiônica *Propionibacterium acidipropionici* MA26/4U na
491 quantidade de $2,5 \times 10^{10}$ Unidades Formadoras de Colônia por grama de produto (UFCg-1) para
492 cada microrganismo (Biomax Milho; Lallemand, Saint-Simon, França). A aplicação ocorreu no
493 momento da ensilagem. O produto foi diluído em água na proporção de um grama por litro e
494 pulverizado sobre o milho de forma constante, segundo recomendações do fabricante. A
495 reensilagem foi realizada de forma que os silos foram abertos, o material desensilado e
496 reensilado após 36 horas de exposição ao ar. Esse procedimento ocorreu em galpão, com início
497 às sete horas da noite do dia 07 de novembro de 2014. A temperatura e a umidade relativa do

498 ar registradas em determinados horários no decorrer da exposição aeróbia foram obtidas na
499 estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil 116 (INMET) localizada a
500 2,4 quilômetros do local. Durante a exposição aeróbia, a temperatura oscilou entre 23.5°C e
501 29.6°C, enquanto a umidade relativa do ar esteve entre 39 e 67%.

502 O peso dos silos experimentais vazios com tampa e o saco de areia seca foi registrado, ainda
503 antes do enchimento do silo. Após preenchidos com a forragem, compactados, tampados e
504 vedados com fita adesiva, os silos foram pesados novamente.

505 No momento da desensilagem, os silos pertencentes ao tratamento “reensilagem” foram
506 pesados cheios e vazios após a retirada da forragem para determinação da produção de gases e
507 de efluentes. A forragem foi amostrada para determinação do teor de matéria seca. Na
508 reensilagem, foram repetidos os passos iniciais da ensilagem, com pesagem inicial do balde
509 vazio e depois do silo cheio.

510 Após 56 dias da reensilagem, todos os silos foram pesados cheios para determinação das perdas
511 por gases conforme a fórmula:

$$512 \quad G = \frac{[(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pen) * MSab]}{[(PCen - Pen) * MSen]} \times 100$$

$$513 \quad \frac{[(PCen - Pen) * MSen]}{[(PCen - Pen) * MSen]}$$

514 Em que:

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

516 $PCen$ = Peso do balde cheio na ensilagem (kg);

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

518 $MSen$ = Teor de MS da forragem na ensilagem (%);

519 $PCab$ = Peso do balde cheio na abertura (kg);

520 $MSab$ = Teor de MS da forragem na abertura (%).

521 Em seguida, os baldes foram abertos, a silagem retirada, amostrada e o conjunto pesado. Dessa
522 forma, efetuou-se a quantificação do efluente produzido, conforme a fórmula:

523 $PE = \frac{Pef \times 1000}{MVi}$

524 MVi

525 Em que:

526 $PE =$ perdas por efluente (kg/t de MV);

527 $Pef =$ peso de efluente (Peso do conjunto vazio após a abertura – peso do conjunto vazio antes
528 do enchimento);

529 $MVi =$ quantidade de massa verde de forragem ensilada (kg).

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

533 $PMS = \frac{[(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pab) * MSab]}{[(PCen - Pen) * MSen]} \times 100$

534 $[(PCen - Pen) * MSen]$

535 Em que:

536 $PMS =$ Perda total de MS (%);

537 $PCen =$ Peso do balde cheio na ensilagem (kg);

538 $Pen =$ Peso do conjunto (balde + tampa + areia seca + saco) na ensilagem (kg);

539 $MSen =$ Teor de MS da forragem na ensilagem (%);

540 $PCab =$ Peso do balde cheio na abertura (kg);

541 $Pab =$ Peso do conjunto (balde + tampa + areia úmida + saco) na abertura (kg);

542 $MSab =$ Teor de MS da forragem na abertura (%).

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

544 As perdas por gases e por efluentes, bem como as perdas totais de matéria seca para as silagens

545 reensiladas, foram obtidas pelo somatório das perdas ocorridas durante a abertura para a

546 desensilagem e a abertura final.

547 No momento da abertura final dos silos experimentais, amostras foram retiradas para as análises
548 de parâmetros fermentativos, composição bromatológica e estabilidade aeróbia, além de
549 contagem de fungos, leveduras e bactérias.

550 A amostra destinada para avaliação da qualidade da fermentação foi prensada para extração do
551 “suco”. Deste foram determinados os valores de pH, nitrogênio amoniacal e de ácidos orgânicos
552 (lático, acético, propiônico e butírico). Os valores de pH foram obtidos utilizando-se o pHmetro
553 HI 221 (Hanna instruments, EUA). A concentração de nitrogênio amoniacal foi obtida pela
554 destilação com óxido de magnésio e cloreto de cálcio, empregando-se solução receptora de
555 ácido bórico e titulação com ácido clorídrico a 0,1 N. Os teores dos ácidos orgânicos foram
556 obtidos por meio de cromatografia líquido-gasosa (Waters® Alliance® HPLC e2695 with 2998
557 PDA Detector).

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

565 Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de cinzas e PB para
566 obtenção dos valores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel
567 em detergente ácido (PIDA). Esses valores foram usados para corrigir a FDN e a FDA para
568 cinzas e proteína (FDNcp e FDAcp). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados
569 usando a equação $CNF = 100 - (\% FDNco + \% PB + \% EE + \% Cinzas)$.

570 A Digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) foi determinada segundo metodologia
571 descrita por Tilley e Terry (1963), adaptada por Holden (1999) para utilização do simulador de

572 rúmen DaisyII device (ANKOM Technology, Fairport, New York, USA). O líquido ruminal
573 foi coletado de um bovino fistulado alimentado com uma dieta composta de 10 kg (MS) de
574 silagem de milho e 3 kg (MS) de um concentrado comercial com 24% proteína bruta.

575 A avaliação da estabilidade aeróbia foi realizada no decorrer de dez dias em sala climatizada à
576 temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ onde foram acondicionados os baldes plásticos contendo 1,5 kg de
577 silagem. A temperatura das silagens foi monitorada duas vezes ao dia com intervalos de 12
578 horas, através de termômetros de mercúrio. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo,
579 em horas, que as silagens apresentaram elevação de 2°C em relação à temperatura ambiente.

580 No momento em que as silagens perderam a estabilidade aeróbia, uma amostra foi retirada para
581 contagem de microrganismos conforme metodologia descrita anteriormente.

582 A contagem de microrganismos (leveduras, fungos e bactérias aeróbias) foi feita pelo método
583 de diluição em placas usando os seguintes procedimentos. Inicialmente, 25 gramas de silagem
584 foram diluídas em 225 mL de água peptonada a 0,1% (0,1 g de peptona por litro de água
585 destilada) e a mistura agitada durante cinco minutos. Para cada amostra, uma diluição serial
586 apropriada (10^{-2} a 10^{-6}) foi feita em tubos contendo 9 mL de solução peptonada 0,1% estéril.
587 Para cada diluição, 0,1 mL foi retirado e semeado em placas de Petri, e o inóculo foi espalhado
588 na superfície do meio de cultura com uma alça de vidro (Drigalski). A contagem total de
589 bactérias foi determinada aerobicamente usando o meio de cultura Ágar Contagem Padrão
590 (PCA) após a incubação por 24-48 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. A contagem total de leveduras foi
591 determinada usando meio de cultura Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar (TGY) após a
592 incubação aeróbia por 24-72 horas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Já, a contagem total de fungos foi determinada
593 utilizando meio de cultura Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol Ágar (DRBC) após a
594 incubação aeróbia por 5-7 dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Todas as placas foram examinadas diariamente. A
595 contagem microbiana total foi expressa como unidade formadora de colônias (UFC) e
596 transformada em logaritmo na base 10 para executar a análise estatística.

597 Os resultados foram submetidos à análise estatística em esquema fatorial 2 x 2 em blocos ao
598 acaso com cinco repetições. Foi utilizado o seguinte modelo estatístico:

599
$$Y_{ijk} = \mu + R_i + I_j + N_{ij} + B_k + e_{ijk}, \text{ em que:}$$

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

601 μ = média geral;

602 R_i = efeito do nível i do fator reensilagem (0 ou 36 horas);

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

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

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

606 e_{ijk} = erro aleatório associado à observação.

607 As médias foram submetidas à análise de interação utilizando o procedimento GLM do
608 programa estatístico SAS® e caso significativa foi desdobrada. Em casos de interação não
609 significativa, os fatores foram comparados separadamente pelo teste de F a 5% de significância.

610 As variáveis foram correlacionadas pela análise de Pearson, a 5% de probabilidade de erro pelo
611 Teste t .

612

613

Resultados e Discussão

614

615 A composição bromatológica da planta de milho no momento da ensilagem é a seguinte: 298.35
616 g Kg⁻¹ MS, 39.59 g Kg⁻¹ cinzas, 76.00 g Kg⁻¹ PB, 582.52 g Kg⁻¹ FDN, 303.41 g Kg⁻¹ FDA e
617 36.59 g Kg⁻¹ EE.

618 De acordo com o proposto por Tomich et al. (2003), as silagens de todos os tratamentos
619 analisados são qualificadas como de excelente padrão fermentativo (tabela 1). No entanto,
620 pôde-se observar que a reensilagem provocou aumento de pH e das concentrações dos ácidos
621 acético e propiônico ($P < 0,01$). A exposição do material ao oxigênio permite o crescimento de

622 microrganismos produtores de acetato, como as bactérias ácido láticas heterofermentativas e
623 as bactérias ácido acéticas (Pahlow, 1991).

624 Em aerobiose, o ácido lático, bem como os carboidratos, proteínas e outros compostos, servem
625 de substratos para a produção de outros ácidos, com grande relevância para o ácido acético.
626 Essas vias fermentativas se tornam viáveis para os microrganismos, pois trazem ganhos
627 energéticos e resultam em maior proteção contra o estresse oxidativo. O fato dos ácidos
628 produzidos terem o pKa maior que o do lactato, leva a um aumento de pH no meio. Essa
629 circunstância é determinante para o crescimento de bactérias do gênero *Clostridium spp.*,
630 responsáveis pela deterioração da silagem e produção de ácido butírico (Wilkinson & Davies,
631 2012).

632 O uso de inoculante bacteriano não influenciou os parâmetros fermentativos das silagens
633 ($P>0,05$). No trabalho de Filya e al. (2004), que também lançaram mão da associação de
634 *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*, observou-se que o inoculante
635 foi capaz de aumentar as concentrações de ácido lático e reduzir as de acetato, não alterando o
636 conteúdo de ácido propiônico.

637 O conteúdo de matéria seca da forragem apenas ensilada teve média de 27,65%. Porém, o baixo
638 teor de MS não foi capaz de comprometer a qualidade da silagem, como visto anteriormente.
639 Observou-se que as silagens de milho reensiladas apresentaram 29,38% de MS, percentual
640 superior às demais analisadas nesse estudo ($P<0,01$). O processo de secagem da forragem
641 quando exposta ao ar foi relatado também por Chen and Weinberg (2014), quando submeteram
642 silagens de milho e trigo a até 48 horas de exposição ao ambiente. Em contrapartida, o teor de
643 MS não foi alterado nos trabalhos de Lima et al. (2016) e Michel et al. (2016), que também
644 expuseram ao ar silagens de milho e sorgo por até 48 e 24 horas, respectivamente. A ocorrência
645 dessa secagem está ligada a fatores ambientais e se deve, principalmente, à ação direta do vento,
646 bem como à influência da umidade relativa do ar e da temperatura ambiente. No presente

647 experimento, o aumento do teor de MS foi numericamente pouco relevante para alteração das
648 demais características físico-químicas da silagem reensilada.

649 Vieira et al. (2013) destacaram que silagens de milho de elevado valor nutritivo têm entre 7 e
650 9% de PB, 48 e 58% de FDN e 23 e 30% de FDA. Todos os tratamentos se encaixam nesses
651 parâmetros, o que demonstra a silagem de milho produzida nesse experimento têm excelente
652 qualidade fermentativa e alto valor nutricional. Os valores encontrados para DIVMS
653 corroboram com a afirmativa anterior, pois são semelhantes aos melhores híbridos de milho
654 avaliados por Vilela et al. (2008).

655 A reensilagem do material causou diminuição da DIVMS e do conteúdo de CNF ($P<0,01$). Por
656 outro lado, aumentou os percentuais de FDN e FDNcp ($P<0,05$). Esses valores são relacionados,
657 pois o aumento na concentração de componentes da parede celular, com redução de
658 carboidratos solúveis, resultam invariavelmente em decréscimo da digestibilidade do alimento.
659 Houve também aumento no teor de PB nos materiais reensilados ($P<0,01$), em consequência da
660 diminuição de açúcares, resultando em uma maior concentração (7,5% superior) desses
661 compostos nitrogenados.

662 Basicamente, dois fatores atuam na reensilagem de modo a consumir CNF. O primeiro é o
663 desenvolvimento de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos, que fermentam esses
664 açúcares a ácidos orgânicos e outros produtos fermentativos. Outro fator, é o aumento nas
665 perdas por efluentes, que carregam substâncias solúveis. A ação mecânica de compactação
666 realizada duas vezes, na ensilagem e na reensilagem, força a evasão de água das células vegetais
667 (Jobim et al., 2007; Michel et al., 2016). Perdas estas que foram comprovadas nos resultados
668 da Tabela 3.

669 O uso de inoculante não foi capaz de alterar a composição bromatológica dos tratamentos, com
670 exceção da diminuição no teor de cinzas da forragem ($P<0,05$). Essa variação está relacionada

671 possivelmente mais com a precisão experimental (baixo EPM), do que com a influência do
672 inoculante em si e tem pouca relevância prática.

673 As perdas de matéria seca acontecem em diversas etapas do processo de produção da silagem.
674 Elas se iniciam na colheita do material no campo, no transporte até o silo, durante o processo
675 fermentativo e no fornecimento aos animais. O foco dos trabalhos de pesquisa está em reduzir
676 as perdas durante o armazenamento. Neste trabalho especificamente, existem duas etapas de
677 armazenamento, separadas por uma exposição aeróbia do material. Por isso, foi instituído o uso
678 de inoculante bacteriano como tentativa de coibir, no material reensilado, o aumento nas perdas
679 de matéria seca de origem fermentativa, que geram prejuízos aos produtores rurais. No entanto,
680 observou-se, na Tabela 3, que a utilização de inoculante não alterou as perdas de MS, sejam
681 elas de origem gasosa, por efluentes ou total ($P>0,05$).

682 As perdas por gases foram semelhantes em todos os tratamentos ($P>0,05$). Estas tiveram médias
683 bem superiores às de Oliveira et al. (2010), que encontraram 2,2% de perdas gasosas em silagem
684 de milho.

685 A reensilagem, como dito anteriormente, provocou aumento nas perdas por efluentes ($P<0,01$),
686 o que resultou em incremento nas perdas totais de MS ($P<0,05$). Houve acréscimo superior a
687 20% nas perdas totais de MS do material reensilado, em relação ao apenas ensilado. Köhler et
688 al. (2013) encontraram em média 10% de perdas de MS em silagens de milho, valor próximo
689 aos determinados neste experimento.

690 A estabilidade aeróbia das silagens de milho foi semelhante em todos os tratamentos ($P>0,05$).
691 Em média, as silagens avaliadas aqueceram após 136 horas de exposição ao ar (Tabela 4). No
692 presente experimento, observou-se concentração superior de ácido acético no material
693 reensilado. Este fato, poderia levar ao aumento da estabilidade aeróbia desses grupos por
694 inibição do crescimento de leveduras e mofos (Tabacco et al., 2011). Porém, isso não foi
695 constatado. Da mesma forma que a inoculação da associação de *Lactobacillus plantarum* e

696 *Propionibacterium acidipropionici* se mostrou ineficiente, de forma semelhante ao ocorrido no
697 trabalho de Filya et al. (2004).

698 Os dados de contagem microbiana revelam que os fungos filamentosos não se desenvolveram
699 de forma significativa até os sete dias pós-incubação, independente da ocorrência de inoculação
700 ou reensilagem. Mesmo na coleta após a perda de estabilidade aeróbia, não houve crescimento
701 considerável desses microrganismos.

702 Em contrapartida, as leveduras tiveram desenvolvimento relevante, no entanto sua contagem
703 ficou abaixo do limiar de 10^5 colônias que Tabacco et al. (2009) consideraram para uma silagem
704 de milho propensa à deterioração aeróbia. Esse valor foi ultrapassado nas coletas no momento
705 da perda de estabilidade, demonstrando sua viabilidade como parâmetro a ser considerado. Não
706 houve diferença no crescimento de leveduras entre os tratamentos, tanto na desensilagem
707 quanto na perda de estabilidade ($P>0,05$). Isto corrobora com o fato de que o aumento de ácido
708 acético nas silagens reensiladas não foi suficiente para alterar o crescimento microbiano durante
709 a exposição aeróbia, pelo menos em número de colônias. Pode-se afirmar que não houve, neste
710 experimento, o crescimento exponencial de leveduras utilizadoras de lactato, citadas por
711 Tabacco et al. (2009) como responsáveis pelo início da deterioração aeróbia nas primeiras 24
712 horas de exposição ao oxigênio. Gerlach et al. (2013) só observaram crescimento exponencial
713 de leveduras, fungos e bactérias aeróbicas, em silagens de milho, a partir do quarto dia de
714 exposição aeróbia. Período esse muito próximo à média de horas em que houve deterioração
715 aeróbia nas silagens desse experimento.

716 A contagem bacteriana também não foi influenciada pela reensilagem, nem pelo uso de
717 inoculante bacteriano ($P>0,05$). Baseado na semelhança da concentração de ácidos orgânicos
718 produzidos e da contagem bacteriana, pode-se afirmar que o inoculante não foi capaz de alterar
719 o perfil bacteriano da silagem. Sendo suplantado pela flora epifítica da forragem. Kristensen et
720 al. (2010) atestaram que o número de bactérias ácido-láticas era três a cinco vezes maior no

721 material fresco da silagem de milho em relação à dose inoculada, não alterando a contagem
722 microbiana entre silagens do grupo controle e dos grupos tratados com inoculante bacteriano.

723

724 **Conclusões**

725

726 1. A reensilagem promove aumento nas perdas de MS por meio de efluentes.

727 2. A reensilagem reduziu o valor nutritivo da forragem.

728 3. O aditivo microbiano utilizado não foi capaz de alterar em nenhum aspecto relevante as
729 características aferidas da silagem de milho.

730

731 **Agradecimentos**

732

733 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação
734 de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo auxílio financeiro e na
735 concessão de bolsas, à UFMG e à EMBRAPA Milho e Sorgo pela parceria no desenvolvimento
736 prático do projeto. Ao INCT de Ciência Animal.

737

738 **Referências**

739

740 AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – **Official methods of**
741 **analysis**. 16 ed. Washington: AOAC, 2000p, 2000.

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

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

746 COAN, R.M.; REIS, R.A.; RESENDE, F.D.; SAMPAIO, R.L.; SCHOCKEN-ITURRINO,
747 R.P.; GARCIA, G.R.; BERCHIELLI, T.T. Economical viability, performance, and carcass

- 748 characteristics of confined steers fed palisadegrass silage, tanzaniagrass silage or corn silage.
749 **Revista Brasileira de Zootecnia**. vol.37 no.2 Viçosa Feb. 2008.
- 750 COSTA, J.H.C.; HÖTZEL, M.J.; LONGO, C. e BALCÃO, L.F. A survey of management
751 practices that influence production and welfare of dairy cattle on family farms in southern
752 Brazil. **Journal of Dairy Science**. v. 96, p. 307-317. 2013.
- 753 DUNIÈRE, L.; SINDOU, J.; CHAUCHYRAS-DURAND, F.; CHEVALLIER, I.;
754 THÉVENOT-SERGENTET, D. Silage processing and strategies to prevent persistence of
755 undesirable microorganisms. **Animal Feed Science and Technology**, v.182, p.1-15. 2013.
- 756 FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. The effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with
757 or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum
758 and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 97, n. 4, p. 818-826, 2004.
- 759 GERLACH, K.; ROB, F.; WEIB, K.; BÜSCHER, W.; SÜDEKUM, K. Changes in maize silage
760 fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats.
761 **Agricultural and Food Science**, v.22, p.168-181, 2013.
- 762 HOLDEN L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds.
763 **Journal of Animal Science**, v.68, 3832-3842. 1999.
- 764 JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na
765 avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, MG.
766 v. 36 (Suplemento especial), p. 101-119. 2007.
- 767 KÖHLER, B.; OSTERTAG, J.; THURNER, S.; SPIEKERS, H. Dry matter losses of grass,
768 Lucerne and maize silages en bunker silos. **Agricultural and Food Science**, v. 22, p. 145-150.
769 2013.
- 770 KRISTENSEN, N.B.; SLOTH, K.H.; HOJBERG, O.; SPLIID, N.H.; JENSEN, C.;
771 THOGERSEN, S. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial
772 contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. **Journal of Dairy
773 Science** 93: 3764–3774. 2010.
- 774 KUNG JUNIOR, L. Aerobic stability of silage. In: ALFAFA & FORAGE SYMPOSIUM AND
775 CORN/CEREAL SILAGE CONFERENCE, Visalia. **Proceedings...** Visalia, 2010. 14p
- 776 LIMA, E.M.; GONÇALVES, L.C.; KELLER, K.M.; RODRIGUES, J.A.S.; SANTOS, F.P.C.;
777 MICHEL, P.H.F.; RAPOSO, V.S.; JAYME, D.G. Re-ensiling and its effects on chemical
778 composition, *in vitro* digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure
779 to air. **Canadian Journal of Animal Science**, September 2016.
- 780 MICHEL, P.H.F.; JAYME, D.G.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; KELLER,
781 K.M.; RAPOSO, V.S.; LIMA, E.M.; SANTOS, F.P.C. Re-ensiling and inoculant application
782 with *Lactobacillus plantarum* and 1 *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages.
- 783 MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de
784 Zootecnia**. Viçosa, MG. v. 39 (Suplemento especial), p. 183-191. 2010.

- 785 OLIVEIRA, L.B.; PIRES, A.J.B.; GLEIDSON, G.P.C.; RIBEIRO, L.S.O.; ALMEIDA, V.V.;
786 PEIXOTO, C.A.M. Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo-sudão, sorgo forrageiro
787 e girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.39, no.1, Viçosa, 2010.
- 788 PAHLOW, G. Role of microflora in forage conservation. In: PAHLOW, G.; HONIG, H. (Eds.)
789 FORAGE CONSERVATION TOWARDS 2000. 1.ed. **Braunschweig: European Grassland**
790 **Federation**, p.26-36. 1991.
- 791 SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho**
792 **de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de açúcar.**
793 Piracicaba. Universidade de São Paulo, 2006. 228p. Tese (Doutorado em Agronomia). USP.
794 Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 2006.
- 795 TABACCO, E., PIANO, S., CAVALLARIN, L., BERNARDES, T.F., AND BORREANI, B.
796 Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as
797 influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of**
798 **Applied Microbiology**, 107: 1632–1641. 2009.
- 799 TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A.; BORREANI, G. Dry matter and nutritional
800 losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic
801 acid bacteria inocula. **Journal of Dairy Science**, Vol. 94 No.3, 2011.
- 802 TANGNI, E.K., PUSSEMIER, L., AND VAN HOVE, F. Mycotoxin contaminating maize and
803 grass silages for dairy cattle feeding: current state and challenges. **Journal of Animal Science**.
804 Adv. 10: 492–511. 2013.
- 805 TILLEY J. M. A. and TERRY R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage
806 crops. **Journal of British Grassland Society**, 18, 104-111. 1963.
- 807 TOMIC, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; TOMICH, R.G.P.; BORGES, I.
808 **Características químicas para avaliação do processo fermentativo: uma proposta para**
809 **qualificação da fermentação.** Documentos, 57. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003.
- 810 VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral
811 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy**
812 **Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- 813 VIEIRA, V.C.; MARTIN, T.N.; MENEZES, L.F.G.; ASSMANN, T. ORTIZ, S.;
814 BERTONCELLI, P.; PIRAN FILHO, F.A.; SCHIMITZ, T.H. Caracterização bromatológica e
815 agrônômica de genótipos de milho para produção de silagem. **Arquivo Brasileiro de Medicina**
816 **Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.3, p.847-856, 2013.
- 817 VILELA, H.H.; REZENDE, A.V.; VIEIRA, P.F.; ANDRADE, G.A.; EVANGELISTA, A.R.;
818 ALMEIDA, G.B.S. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de
819 maturação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.7, p.1192-1199, 2008.
- 820 WILKINSON J.M. and DAVIES D.R. The aerobic stability of silage: key findings and recent
821 developments. **Grass and Forage Science**, 68, 1–19. 2012.
822
- 823

824

825

826 **Tabela 1.** Parâmetros fermentativos das silagens de milho reensiladas com a utilização de
 827 inoculante⁽¹⁾.

Tratamentos	pH	NH ₃ - N/NT (g kg ⁻¹)	Ácido lático (g kg ⁻¹ MS)	Ácido acético (g kg ⁻¹ MS)	Ácido propiónico (g kg ⁻¹ MS)	Ácido butírico (g kg ⁻¹ MS)
Controle						
SIL	3.80	82.38	74.16	14.46	0.48	1,52
RE	3.94	80.04	68.50	39.68	2.50	0.40
Inoculante						
SIL	3.79	82.30	72.18	12.00	0.40	0.56
RE	3.87	69.54	61.80	30.32	1.44	0.020
EPM	0.02	0.35	0.24	0.33	0.03	0.03
P-value						
I	NS	NS	NS	NS	NS	NS
R	**	NS	NS	**	**	NS
I × R	NS	NS	NS	NS	NS	NS

828 ⁽¹⁾SIL, ensilado; RE, reensilado; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito
 829 da reensilagem; I x R, efeito da interação; *, P<0,05; **, P<0,01.

830

831

832

833

834

835

836

837 **Tabela 2.** Composição química e digestibilidade in vitro da matéria seca das silagens de milho
 838 reensiladas com a utilização de inoculante⁽¹⁾.

Parâmetro (g kg ⁻¹ MS)	Tratamentos					P-value		
	Controle		Inoculante		EPM	I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS	276.50	290.52	276.54	297.08	0.26	NS	**	NS
Cinzas	43.28	44.12	39.66	42.9	0.04	*	NS	NS
PB	79.82	84.36	76.44	83.82	0.06	NS	**	NS
PIDN	12.46	12.72	11.92	12.42	0.04	NS	NS	NS
PIDA	8.40	7.78	7.68	7.76	0.04	NS	NS	NS
EE	35.32	36.12	35.90	36.56	0.11	NS	NS	NS
FDN	509.82	549.46	536.44	579.7	0.59	NS	*	NS
FDN _{cp}	474.28	520.08	506.0	545.6	0.57	NS	*	NS
FDA	284.22	290.56	295.52	302.5	0.39	NS	NS	NS
FDA _{cp}	270.44	274.30	279.38	280.04	0.53	NS	NS	NS
Lignina	19.42	15.10	11.78	17.22	0.24	NS	NS	NS
CNF	367.30	315.32	342.00	291.12	0.94	NS	**	NS
DIVMS	705.58	658.34	686.76	659.92	0.65	NS	**	NS

839 ⁽¹⁾SIL, ensilado; RE, reensilado; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito
 840 da reensilagem; I x R, efeito da interação; *, P<0,05; **, P<0,01.

841

842

843

844 **Tabela 3.** Perdas de matéria seca por gases, efluentes e total das silagens de milho reensiladas
 845 com a utilização de inoculante⁽¹⁾.

Tratamentos	Gases (%)	Efluentes (kg Ton ⁻¹)	Total (%)
Controle			
SIL	8.33	19.57	10.72
RE	9.25	29.54	12.74
Inoculante			
SIL	8.38	18.18	10.62
RE	8.99	28.89	13.16
EPM	0.48	1.30	0.56
P-value			
I	NS	NS	NS
R	NS	**	*
I × R	NS	NS	NS

846 ⁽¹⁾SIL, ensilado; RE, reensilado; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito
 847 da reensilagem; I x R, efeito da interação; *, P<0,05; **, P<0,01.

848

849

850

851

852

853

854

855

856 **Tabela 4.** Estabilidade aeróbia e contagem microbiológica na abertura do silo e na perda de
 857 estabilidade aeróbia das silagens de milho reensiladas com a utilização de inoculante⁽¹⁾.

Tratamentos	Estabilidade aeróbia (horas)	Contagem microbiológica total (LogUFC g ⁻¹)			
		Bactérias ⁽²⁾	Leveduras ⁽²⁾	Bactérias ⁽³⁾	Leveduras ⁽³⁾
		Controle			
SIL	144.00	5.35	3.14	6.56	7.90
RE	141.60	5.37	2.51	7.47	5.74
Inoculante					
SIL	156.00	4.41	2.98	8.40	8.21
RE	105.60	5.94	2.85	8.11	7.89
EPM	13.83	0.30	0.25	0.44	0.44
P-value					
I	NS	NS	NS	NS	NS
R	NS	NS	NS	NS	NS
I × R	NS	NS	NS	NS	NS

858 ⁽¹⁾SIL, ensilado; RE, reensilado; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito
 859 da reensilagem; I x R, efeito da interação; *, P<0,05; **, P<0,01. ⁽²⁾ Contagem na abertura do
 860 silo. ⁽³⁾ Contagem no momento da perda de estabilidade aeróbia.