

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

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

PAULO HENRIQUE ARRUDA DE MEDEIROS

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG
2018

Paulo Henrique Arruda de Medeiros

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

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

Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Ângela Maria Quintão Lana

Co-orientador: Diogo Gonzaga Jayme

Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária - UFMG
2018

M488e

Medeiros, Paulo Henrique Arruda de, 1989-
Efeito da reensilagem e do uso de inoculante bacteriano na silagem de milho / Paulo
Henrique Arruda de Medeiros. – 2018.
48 p. : il.

Orientador: Ângela Maria Quintão Lana

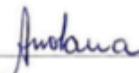
Co-orientador: Diogo Gonzaga Jayme

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

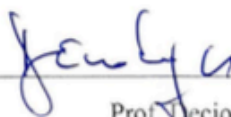
1. Milho – Silagem – Teses. 2. Silagem – Qualidade – Teses. 3. Valor nutricional –
Teses. I. Lana, Ângela Maria Quintão. II. Jayme, Diogo Gonzaga. III. Universidade
Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

CDD – 633.2

Dissertação defendida e aprovada em 28/02/2018 pela Comissão Examinadora composta por:



Prof. Angela Maria Quintão Lana (Orientadora)



Prof. Decio Souza Graça



Prof. Cristiano Gonzaga Jayme

EPÍGRAFE

“Não espere, o momento perfeito nunca chegará. Comece de onde está e com as ferramentas que você tem nas mãos. Você encontrará ferramentas melhores pelo caminho”

Napoleon Hill

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, principalmente aos meus pais Valdir Ludovico de Medeiros e Marli Dirino Arruda de Medeiros, que sempre colocaram meus sonhos e meus objetivos à frente dos seus.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Ângela Maria Quintão Lana e 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 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, Fabiana e Gabriela pela ajuda na execução das análises;

Aos meus pais Valdir e Marli, por me darem todas as condições possíveis de concluir essa etapa e pelas palavras de apoio e carinho durante essa etapa;

Aos meus irmãos, Fredy e Flávia, pelo apoio, pelas conversas e pelo carinho;

À Isabela, por ser companheira em todos os momentos, pela paciência, pelo amor, pelo carinho e pela ajuda durante esses anos;

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

Aos amigos Pedro, Eduardo e Thiago por toda ajuda durante a fase experimental e conselhos;

Aos grupos de GPAS e Forragicultura e Alimentos pela contribuição na realização deste projeto e pelos bons momentos vividos;

Aos amigos de república Pedro, Claudinei e José Azael, pela excelente convivência e conselhos nessa etapa;

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

À Escola de Veterinária da UFMG, pelos ensinamentos e pelas amizades 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
-------------	---

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1	Panorama da pecuária brasileira e a estacionalidade da produção de forragem.....	10
2.2	Milho: características e produção de silagem.....	11
2.3	Ensilagem, qualidade fermentativa e valor nutritivo da silagem de milho..	12
2.4	Estabilidade aeróbia das silagens de milho.....	14
2.5	Utilização de inoculantes bacterianos em silagens de milho.....	15
2.5	Reensilagem.....	18
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

CAPÍTULO 2 - ARTIGO CIENTÍFICO.....	24
--	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca de silagens de milho reensiladas e tratadas com inoculante.....	47
Tabela 2 - Parâmetros de qualidade fermentativa de silagens de milho reensiladas e tratadas com inoculante.....	48
Tabela 3 - Estabilidade aeróbia, pH durante o teste de estabilidade e contagem de microrganismos total no momento da abertura e após a perda de estabilidade aeróbia da silagem de sorgo reensilada e tratada com inoculante.....	49

LISTA DE ABREVIACOES

BAL	Bactérias cido lticas
CNF	Carboidratos não fibrosos
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DRBC	Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol gar
EE	Extrato etéreo
FDA	Fibra insolúvel em detergente cido
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	gar contagem padrão
PIDA	Proteína insolúvel em detergente cido
PIDN	Proteína insolúvel em detergente neutro
RE	Material reensilado
SIL	Material somente ensilado
TGY	Triptona Glicose Extrato de Levedura gar
UFC	Unidades formadoras de colônia

RESUMO

A reensilagem é uma prática crescente no Brasil e no mundo devido ao aumento da comercialização de silagens entre fazendas. Nessa prática, a silagem armazenada em uma fazenda é desensilada, transportada, e ensilada novamente em outra fazenda. Durante o processo, a silagem fica exposta ao ar até ser reensilada. Isto pode resultar em perdas de valor nutricional e da qualidade do material. Para reduzir essas perdas alguns inoculantes bacterianos têm sido utilizados. Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante bacteriano em silagem de milho. O híbrido de milho BRS 1055 foi ensilado com ou sem aplicação de inoculante. O tratamento reensilagem teve exposição aeróbia por 0 ou 18 horas. O inoculante utilizado na ensilagem foi a associação de *Lactobacillus plantarum* e *Propionobacterium acidipropionici*. A composição química, a qualidade fermentativa, a estabilidade aeróbia, as perdas de matéria seca e a contagem microbiológica foram avaliadas nas silagens. A reensilagem reduziu 14,5% do teor de carboidratos não fibrosos (CNF) e aumentou o teor de fibra em detergente neutro (FDN) e cinzas das silagens. A DIVMS foi 6% menor nas silagens reensiladas. Além disso, a reensilagem promoveu maiores perdas por gases, por efluentes e de matéria seca total. Também houve menor teor de ácido lático e maior teor de ácido acético nas silagens de milho reensiladas. A DIVMS aumentou 4,6% nas silagens inoculadas. A reensilagem reduziu o valor nutritivo e a DIVMS das silagens de milho. Além disso, a reensilagem aumentou consideravelmente as perdas de matéria seca total. O inoculante microbiano não foi eficaz em reduzir as perdas nas silagens, alterar a composição química e o perfil fermentativo, porém aumentou a digestibilidade da matéria seca.

Palavras-chave: estabilidade aeróbia, deterioração aeróbia, fungo, levedura, *Lactobacillus plantarum* e *Propionobacterium acidipropionici*

1 **CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA**

3 **1. INTRODUÇÃO**

6 A conservação de forragens frescas por meio da ensilagem ocorre em meio anaeróbio,
7 via fermentação láctica. As bactérias lácticas convertem os carboidratos solúveis em ácidos
8 orgânicos, principalmente em ácido láctico, e desta forma reduzem o pH da silagem. Assim, o
9 material fica protegido da ação de microrganismos aeróbios como os fungos e as leveduras,
10 que são os principais causadores da deterioração aeróbia e redução da qualidade fermentativa
11 e do valor nutricional da silagem (Michel et al., 2017; Pahlow et al., 2003).

12 Alguns fatores têm contribuído para o aumento da exposição aeróbia da silagem antes
13 do fornecimento aos animais. Um dos principais fatores é a comercialização de silagem entre
14 fazendas, que é cada vez mais frequente no Brasil e em outros países do mundo. Esta prática
15 envolve a reensilagem, que é um processo em que há a desensilagem do material conservado,
16 seguida do transporte e reensilagem no local de destino. Nessa operação, inevitavelmente a
17 silagem é exposta ao ar permitindo a proliferação de microrganismos deterioradores (Chen e
18 Weinberg, 2014). A comercialização de silagem é cada vez mais frequente devido à
19 instabilidade climática e a falta de maquinário e mão de obra especializada para a produção de
20 silagem. Além disso, existem fazendas se especializando na produção de silagem devido à
21 intensa procura desse volumoso no mercado. A reensilagem permite as fazendas que tem uma
22 área limitada para a formação de lavouras otimizarem a suas produções pelo melhor
23 aproveitamento das áreas.

24 Para reduzir as possíveis perdas de valor nutricional e perdas de matéria seca da
25 reensilagem, alguns inoculantes bacterianos têm sido utilizados. Em silagens de sorgo com ou
26 sem inoculante e reensiladas, Michel et al. (2017) não observaram melhoria na qualidade das
27 silagens inoculadas com *Lactobacillus plantarum* e *Propionobacterium acidipropionici*. No
28 entanto, os autores verificaram que a reensilagem reduziu a DIVMS e aumentou as perdas por
29 efluentes. Lima et al. (2017) não observaram efeito da reensilagem na qualidade das silagens
30 de milho, exceto o teor de lignina, que foi maior para as silagens reensiladas. Chen e
31 Weinberg (2014) observaram que o uso de inoculante com *Lactobacillus plantarum* ou a alta
32 contagem de fungos e leveduras nas silagens pode favorecer a deterioração aeróbia após a
33 abertura do silo. A reensilagem possibilita o crescimento desses microrganismos devido à
34 exposição aeróbia. Os estudos sobre o efeito da reensilagem e do uso de inoculante em

35 silagens são recentes. Ainda não há informações sobre a reensilagem e o uso de inoculante
36 com *Lactobacillus plantarum* e *Propionobacterium acidipropionici* na qualidade das silagens
37 de milho.

38 Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante com a bactéria
39 láctica heterofermentativa facultativa *Lactobacillus plantarum* e a bactéria propiônica
40 *Propionobacterium acidipropionici* na qualidade da silagem de milho.

41

42 **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

43

44

45 **2.1. Panorama da pecuária brasileira e a estacionalidade da produção de forragem.**

46 O rebanho bovino brasileiro é composto por aproximadamente 226 milhões de
47 animais, que representa 22,64% do rebanho bovino do mundo, sendo o segundo maior
48 (USDA/FAO, 2016). O Brasil é o segundo maior produtor de carne, produzindo 9,28
49 toneladas/ano (USDA/FAO, 2016). E de acordo com a Conab (2017), o Brasil foi o quinto
50 maior produtor de leite de vaca no mundo em 2016 (34,6 toneladas de leite). Esses dados
51 evidenciam o protagonismo e a importância do Brasil na produção de alimentos para a
52 população mundial.

53 Entretanto, a pecuária brasileira, se depara com limitações relacionadas à
54 irregularidade na oferta de pastagens durante o ano. Isso ocorre devido às condições
55 climáticas do inverno (entressafra) e verão (safra). No inverno tem diminuição da produção de
56 forragem devido à limitação hídrica e de temperatura. Já no verão ocorre o inverso, e a
57 condição climática é favorável para o crescimento das forrageiras tropicais. Como resultado
58 ocorre oscilação da produção de forragem ao longo do ano.

59 Diante desse cenário, é necessário ter alternativas para estocar o excesso de forragem
60 produzida no verão para suplementar no inverno, seja em sistemas de produção confinado ou
61 semiconfinado. Dentre as alternativas, a ensilagem é principal forma de armazenamento, pois
62 permite que o alimento estocado conserve as características nutricionais próximas ao da
63 planta no momento da colheita (McDonald et al., 1991).

64 Em geral, recomenda-se que a forrageira utilizada na produção de silagem apresente
65 elevado rendimento de matéria seca (MS) por unidade de área, bom valor nutritivo, alto teor
66 de carboidratos solúveis e baixa capacidade tampão. O milho apresenta essas características
67 (Possenti et al., 2005; Nussio et al., 2001), que são imprescindíveis para uma boa conservação
68 do material ensilado.

69

70 **2.2.Milho: características e produção de silagem**

71 O milho (*Zea Mays*) é um cereal produzido em quase todos os continentes e sua
72 importância econômica vai desde a alimentação animal (70% da produção ou até 85% em
73 países desenvolvidos) até a produção de filmes e embalagens biodegradáveis (Paes, 2008). O
74 Brasil se destaca na produção e exportação de milho, sendo o terceiro maior produtor desse
75 cereal no mundo, com 64,2 milhões de toneladas/ano (FAO,2016). O Brasil é o maior
76 exportador de milho, com 26,6 milhões de toneladas/ano (FAO, 2013). Na safra 2017/2018,
77 estima-se que a produção de milho no Brasil seja próxima de 92,2 milhões de toneladas,
78 distribuídos em 17,5 milhões hectares de lavouras (CONAB, 2017).

79 O milho é uma planta de metabolismo C4 que tem alta eficiência na utilização de luz e
80 do CO₂ durante o processo de fotossíntese (Magalhães et al., 1995). Para não haver limitação
81 hídrica e obter alta produtividade, o milho necessita de precipitações pluviométricas entre 500
82 e 800 mm durante o ciclo da cultura. É possível que a planta se desenvolva com pelo menos
83 350 mm de chuva, desde que não haja limitação hídrica no período entre a iniciação floral e a
84 maturação da planta (Landau et al., 2010).

85 A densidade de plantas da lavoura de milho deve ser entre 40.000 a 70.000
86 plantas/hectare (ha). A densidade de plantas inadequada é uma das principais causas de baixo
87 rendimento da cultura (Filho e Cruz 2002). A produtividade é um dos fatores que fazem da
88 planta de milho, ser a mais utilizada pelos produtores de leite no Brasil para confecção de
89 silagens (Bernardes e Rêgo, 2014). A produtividade do milho dependerá do híbrido utilizado,
90 da fertilidade do solo e da adubação de cobertura, da disponibilidade hídrica e dos cuidados
91 culturais. Na região sudeste do Brasil a produção de matéria seca de diversos híbridos de
92 milho está entre 8,5 a 18,8 toneladas/ha (Oliveira et al. 2003).

93 O híbrido BRS 1055 é um híbrido simples, lançado em 2010, que na safra 2008/2009
94 ficou situado entre os mais produtivos da EMBRAPA (8984 Kg de grãos/ha). Seu ciclo é
95 semiprecoce, com grãos semidentados e caracteriza-se por ser resistente ao acamamento e às
96 pragas foliares. O híbrido BRS 1055 apresenta estabilidade de produção, alta prolificidade e é
97 indicado para a produção de silagens, devido à sua produtividade e excelente digestibilidade
98 (Guimarães et al., 2009).

99 Bernardes e Rêgo (2014) realizaram um levantamento de dados com produtores e
100 técnicos de fazendas leiteiras no Brasil e constataram que 82,7% das silagens confeccionadas
101 são feitas com a planta de milho inteira, seja sozinha ou consorciada com outra forrageira.
102 Nos Estados Unidos e na Europa, a silagem de milho também é a principal fonte de volumoso
103 para os animais (Driehuis et al., 2000).

104 O milho possui características que o tornou a principal cultura usada para produção de
105 silagem, como a facilidade para formar lavouras, alta produção e boa aceitabilidade pelos
106 bovinos. Tradicionalmente, o milho é a planta escolhida para a confecção de silagem. A
107 qualidade da silagem depende o material ensilado, dos tipos de microrganismos envolvidos no
108 processo de fermentação, e do manejo de desabastecimento do silo. Portanto, o valor nutritivo
109 da silagem está relacionado às características agronômicas da forrageira ensilada, manejo da
110 ensilagem e ao processo de conservação.

111

112 **2.3. Ensilagem, qualidade fermentativa e valor nutricional da silagem de milho.**

113 A ensilagem é a conservação de alimentos em meio ácido e anaeróbio. Para obter essa
114 condição o material deve ser compactado, ter alta e rápida produção de ácido lático, reduzir o
115 pH e garantir a menor concentração de oxigênio na estocagem e no desabastecimento do silo
116 (Kung e Junior, 2001). O objetivo da fermentação das silagens é alcançar níveis suficientes de
117 ácido lático para preservar os nutrientes da forragem, inibir a ação de microrganismos
118 aeróbios e anaeróbios indesejáveis e diminuir às perdas de matéria seca (Bolsen et al., 1992).

119 Em meio anaeróbio as bactérias lácticas têm predomínio sobre o processo fermentativo e
120 convertem os carboidratos solúveis da planta em ácido lático (Muck, 1987, Weinberg e Muck
121 1996). Logo, com o aumento da concentração desse ácido tem a redução do pH da massa
122 ensilada para 3,6 a 4,2 (McDonalds et al., 1991). Nessa faixa de pH ocorre inibição de
123 microrganismos indesejáveis (Filya et al., 2000). Além desses fatores, a rápida redução do pH
124 evita a degradação proteica da silagem devido à inativação das proteases presentes na planta
125 (Kung e Junior, 2001).

126 Os principais microrganismos envolvidos na fermentação anaeróbia são as bactérias
127 lácticas, que produzem o ácido lático como principal produto da conversão de glicose, mas
128 essas bactérias também produzem ácido acético, etanol e CO₂ (Muck, 2010). As bactérias
129 lácticas são divididas em dois grupos: as homofermentativas, que convertem um mol de glicose
130 em dois moles de ácido lático; o outro grupo são as bactérias heterofermentativas, que
131 convertem a glicose em um mol de ácido lático, um mol de CO₂ e um mol de etanol ou ácido
132 acético (Muck 2010). As bactérias lácticas homofermentativas são mais eficientes, pois
133 produzem mais ácido lático e tem menor perda de energia (Pahlow, 2003).

134 Em meio ácido e anaeróbio, os clostrídios, os fungos e as leveduras são inibidos. Esses
135 microrganismos são indesejáveis, pois estão envolvidos na deterioração anaeróbia (clostrídios
136 e enterobactérias) e deterioração aeróbia (leveduras e fungos) de silagens (Driehuis et al.,
137 2000), além de competir com as bactérias lácticas pelos substratos.

138 A preservação dos nutrientes da silagem depende da eficiência e qualidade do processo
139 fermentativo (Macedo et al., 2012). De acordo com Tomich et al. (2003), os principais
140 parâmetros para avaliação do processo fermentativo das silagens são: teor de MS, pH, teor de
141 nitrogênio (N) amoniacal em relação ao N total, e o teor dos ácidos orgânicos. Para produzir
142 silagens de boa qualidade o teor de matéria seca deve estar entre 30 e 35% no momento da
143 colheita da forragem (McDonald et al. 1991).

144 O teor de MS abaixo de 30% permite o crescimento de clostrídios, que produzem
145 fermentação butírica e causam proteólise da forragem, elevando os níveis de N amoniacal. Em
146 silagens com excelente qualidade fermentativa a concentração de N amoniacal em relação ao
147 N total deve ser abaixo de 10% e o teor de ácido butírico deve ser abaixo de 0,1% (Tomich et
148 al., 2003). Além disso, a MS baixa causa compactação excessiva e perda de nutrientes devido
149 à lixiviação.

150 O teor de MS acima de 35% dificulta a compactação e resulta em maior quantidade de
151 oxigênio residual na silagem. Essa condição permite o crescimento de fungos e leveduras, que
152 consomem os carboidratos solúveis da silagem e causam aumento do pH e da temperatura do
153 material (Tabacco et al., 2009). As leveduras e fungos consomem o ácido lático e por isso tem
154 aumento do pH (Muck, 2010). As silagens bem conservadas possuem valores de pH entre 3,6
155 a 4,2 (McDonald et al., 1991). E as temperaturas elevadas podem causar Reação de Maillard,
156 reduzindo o valor nutricional da silagem (Van Soest, 1994).

157 Para determinar o valor nutricional da silagem e balancear as dietas adequadamente é
158 necessário realizar a análise de sua composição química. As principais análises são o teor (%)
159 de matéria seca, % de proteína bruta (PB) e % de componentes fibrosos (FDN e FDA). A
160 silagem de milho é a principal fonte de energia e fibra na dieta de vacas leiteiras (Bernardes e
161 Rêgo 2014). O teor de fibra da silagem está diretamente relacionado ao consumo e à
162 digestibilidade do material no trato digestivo. A quantidade proteína de bruta da silagem de
163 milho pode representar maior ou menor inclusão de concentrado proteico na dieta. Sendo
164 assim, uma silagem de melhor valor nutricional pode reduzir o custo da dieta devido à menor
165 inclusão de concentrado proteico.

166 Nesse sentido, Lima et al. (2017) verificaram a composição de química de silagens de
167 milho colhidas com 38,69% de MS. A silagem apresentou 37,1% MS, 7,01% PB, 42,2%
168 FDN, 21,5% FDA, 11,4% de lignina e 3,39% de cinzas. A planta de milho teve 32% de
169 colmo, 16% de folhas e 52% de espigas. Filya (2004) obteve valores de MS entre 21,1 e
170 42,0%, PB de 5,8% a 8,0%, FDN de 42,1% a 52,7%, FDA entre 23,9% e 33,7%, lignina de
171 2,1% a 4,0% e cinzas entre 3,8% e 4,4% para silagens de milho em diferentes estádios de
172 maturação da planta. O valor nutricional da silagem de milho vai depender da relação

173 colmo/folha/espiga, da disponibilidade hídrica, do momento da colheita e do manejo da
174 ensilagem.

175

176 **2.4. Estabilidade aeróbia das silagens**

177 A presença de oxigênio na silagem pode causar deterioração aeróbia. Esta é um
178 processo microbiológico que causa redução dos nutrientes solúveis e aumento da
179 concentração fibrosa da silagem (Lima et al., 2017). Tabacco et al. (2011), observaram maior
180 teor de FDN nas silagens de milho expostas ao ar por sete e 14 dias. Esse maior teor de FDN
181 é resultado do crescimento de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos que
182 consomem os carboidratos solúveis (Michel et al., 2017). Assim, a reensilagem pode reduzir o
183 valor nutricional da silagem devido à exposição aeróbia durante os processos de
184 desensilagem, transporte e reensilagem. A exposição aeróbia causa aumento da temperatura e
185 pH das silagens (Filya et al., 2006).

186 A estabilidade aeróbia é a resistência que o material ensilado confere ao crescimento
187 de microrganismos deterioradores após a abertura do silo. Essa é determinada pelo número de
188 horas que a temperatura da silagem exposta ao ar leva para atingir dois graus acima da
189 temperatura ambiente (Filya, 2003). A estabilidade aeróbia da silagem é fundamental para
190 manter a qualidade e a digestibilidade (Filya et al., 2006). Quanto maior a estabilidade aeróbia
191 da silagem após a abertura do silo, menores serão os danos causados por microrganismos
192 deterioradores.

193 Os fungos e as leveduras são os principais microrganismos responsáveis pela
194 deterioração aeróbia (Muck 1988; Pahlow et al., 2003; Santos et al., 2013) e aquecimento da
195 silagem (Kung Jr. 1998). Na presença do oxigênio esses microrganismos utilizam os
196 carboidratos solúveis e os ácidos orgânicos como fonte de energia (McDonald et al., 1991).
197 Isso resulta em produção de CO₂, água, calor e elevadas perda de MS (Borreani e Tabacco
198 2009). A presença de oxigênio na silagem ocorre quando há má compactação e vedação
199 inadequada do silo. A má compactação aumenta o espaço entre as partículas do material e isso
200 facilita a entrada do oxigênio durante o desabastecimento (Jobim et al., 2007). As perdas de
201 MS nessa etapa podem variar de 2 a 19% (Velho et al., 2006).

202 Segundo Muck (2010), as leveduras são os primeiros microrganismos a proliferarem
203 na silagem, pois sobrevivem em meio ácido (pH acima de 3,5) e anaeróbio. Dentre as
204 leveduras, as estirpes que utilizam o ácido lático iniciam o processo de deterioração e abrem o
205 caminho para a proliferação de outros microrganismos. Com o consumo do ácido lático pelas
206 leveduras, ocorre aumento do pH do meio e, assim, o ambiente torna-se favorável para a
207 proliferação de outras leveduras e fungos.

208 Em relação às leveduras, os fungos crescem mais lentamente na silagem exposta ao ar.
209 De acordo com Gerlach (2013), esses microrganismos demoram aproximadamente oito dias
210 para crescerem significativamente na silagem. Isto acontece porque os fungos não toleram pH
211 abaixo de cinco, e assim crescem após a proliferação das leveduras (Muck, 2010).

212 O aumento de temperatura e de pH da silagem caracterizam a deterioração aeróbia
213 (Filya, 2003; Filya et al., 2006). Borreani e Tabacco (2009) verificaram aumento da
214 temperatura, do pH, e a da contagem de fungos e leveduras nas laterais do silo em relação ao
215 centro. Apenas o teor de ácido lático foi menor nas laterais. Esses resultados sugerem que à
216 deterioração aeróbia foi maior nas laterais do silo do que na região central. Isto é possível
217 devido à maior dificuldade de compactação nas laterais do silo, resultando em maior
218 quantidade de ar entre às partículas da silagem. Na prática, a deterioração aeróbia da silagem
219 apresenta-se como aumento de temperatura e presença de mofo no material (McDonald et al.,
220 1991).

221 A contagem de leveduras e fungos e o valor do pH são os principais indicadores para
222 avaliar a deterioração aeróbia das silagens (Filya, 2004). Lima et al. (2017) não observaram
223 aumento na contagem de fungos e leveduras em silagens de milho reensiladas após 48 horas
224 de exposição aeróbia. Em silagens de sorgo, Michel et al. (2017) também não observaram
225 maior contagem de fungos e leveduras nas silagens reensiladas em relação a silagem controle.

226 O teor de MS da planta no momento da ensilagem também pode interferir na
227 estabilidade aeróbia (Filya, 2004). Este autor verificou maior valor de pH e produção de CO₂
228 em silagens de milho ensiladas com 21,1% de MS em relação às silagens de milho com 28,3,
229 35,8 e 42% de MS. Esse aumento na produção de CO₂ e do valor de pH são indicativos de
230 deterioração aeróbia (Filya 2004).

231 Portanto, manter a estabilidade aeróbia após a abertura do silo, é fundamental para
232 conservar os nutrientes da silagem e garantir um alimento de bom valor nutricional para os
233 animais (Filya, 2004), além de reduzir às perdas de MS.

234

235 **2.5.Utilização de inoculantes bacterianos em silagens de milho**

236 O processo fermentativo das silagens se baseia em produzir níveis suficientes de ácido
237 lático para inibir o crescimento dos microrganismos epifíticos indesejáveis e inibir a ação das
238 enzimas presentes na planta (Bolsen et al., 1992). Essa fermentação pode ser realizada
239 naturalmente pelos microrganismos presentes na planta ou pode ser adicionado inoculante com
240 bactérias lácticas para aumentar a eficiência do processo fermentativo (Ávila et al., 2014). Com
241 este propósito, alguns aditivos microbiológicos têm sido desenvolvidos para aumentar a
242 estabilidade aeróbia e reduzir a deterioração aeróbia das silagens (Kung jr.1998).

243 As características desejáveis de um inoculante para silagem são: reduzir rapidamente o
244 pH do material, produzir menor teor de etanol e de nitrogênio amoniacal, aumentar a relação
245 de lactato/acetato e reduzir às perdas de MS (Weinberg e Muck, 1996). As bactérias láticas
246 presentes no inoculante tem a capacidade de sobressair no processo fermentativo das silagens
247 em relação aos microrganismos epifíticos (Arriola et al., 2011), além de produzirem maiores
248 quantidades de ácido de lático e reduzir o pH rapidamente (Ávila et al., 2014).

249 A aplicação de inoculantes com bactérias láticas na silagem destina-se a garantir uma
250 fermentação rápida e vigorosa, que resulte em rápido acúmulo de ácido lático, valores de pH
251 baixo em estágios iniciais da fermentação e maior eficiência na preservação da forragem
252 (Filya 2000). Isto ocorre pelo aumento da população de bactérias láticas no silo, que assim
253 dominarão o processo fermentativo e aumentarão a produção de ácido lático para promover
254 rápida queda de pH. Para isso, são necessárias 10^5 a 10^6 microrganismos por grama de
255 silagem para que as bactérias láticas predominem sobre os microrganismos epifíticos da
256 planta (Weinberg et al., 2004).

257 Os inoculantes comerciais incluem bactérias láticas homofermentativas,
258 heterofermentativas ou ambas (Queiroz et al., 2013). As bactérias propiônicas também podem
259 ser adicionadas no inoculante. As bactérias homofermentativas caracterizam-se pela rápida
260 taxa de fermentação, menor proteólise, maior concentração de ácido lático, menores teores de
261 ácidos acético e butírico, menor teor de etanol e menor perda de energia e MS (Zopollato,
262 2009). As bactérias heterofermentativas utilizam o ácido lático e a glicose como substratos
263 para produção de ácidos acético e propiônico, que são antifúngicos sob baixo pH (Zopollato,
264 2009). A qualidade das silagens inoculadas é dependente da conversão dos carboidratos
265 solúveis produzidos pelos microrganismos e de seus produtos fermentados, como o ácido
266 lático, acético e propiônico (Ávila et al., 2014).

267 Entretanto, as silagens com predominância de bactérias homofermentativas e com
268 acúmulo de ácido lático podem perder a estabilidade aeróbia mais rápido. Devido à baixa
269 propriedade antifúngica e a possibilidade dos fungos e das leveduras utilizarem o ácido lático
270 como substrato (Arriola et al., 2011; Mohammadzadeh et al., 2012). Em diversos estudos a
271 inoculação de bactérias homofermentativas em silagens piorou a estabilidade aeróbia, devido
272 a menor produção de ácido acético e ao menor potencial antifúngico dos produtos da
273 fermentação (Kung Junior, 2001). A capacidade das bactérias utilizarem diferentes substratos
274 e produzir diferentes metabólitos pode ser vantajoso na competição com outros
275 microrganismos (Ávila et al., 2014). Por isso, alguns inoculantes com *Propionibacteria* tem
276 sido usado para aumentar a produção de ácidos acético e propiônico (Kung e Junior 2001).

277 Diante desses fatores, as bactérias que produzem outros ácidos têm sido estudadas,
278 como as bactérias propiônicas que produzem ácido propiônico (Filya et al., 2006). Essas
279 bactérias convertem o ácido lático e a glicose em ácido propiônico. Segundo Kung jr (1998)
280 esse ácido tem propriedades antifúngicas e pode inibir a ação deterioradora dos fungos.

281 Dentre as bactérias propiônicas, a *Propionobacterium acidipropionici* é a principal
282 bactéria utilizada em inoculantes comerciais. Essa bactéria converte o ácido lático e a glicose
283 em ácido propiônico. Esses ácidos são efetivos em inibir ação de leveduras e fungos, porém, o
284 propiônico é mais eficiente (Zhang et al., 2010).

285 Os benefícios da utilização de inoculantes com *Lactobacillus plantarum* em silagens
286 milho são variáveis. Isto porque os inoculantes podem apresentar resultados positivos,
287 negativos ou não ter efeito. Tabacco et al. (2011) não verificaram aumento na produção de
288 ácido lático e acético, e também não observaram melhora no valor de pH das silagens
289 inoculadas com *Lactobacillus plantarum* em relação à silagem sem inoculante. Segundo
290 esses autores, não houve diferença na contagem de fungos entre essas silagens. Além disso, as
291 perdas de MS foram superiores para a silagem com inoculante (3,4%) em relação à sem
292 inoculante (2,4%) após 14 dias de exposição aeróbia.

293 Filya (2004) verificou que as silagens de milho que tiveram maior produção de ácido
294 acético após 90 dias de ensilagem e exposição aeróbia por cinco dias apresentaram melhor
295 estabilidade aeróbia em relação às outras silagens de milho com menor produção desse ácido.
296 Em outro estudo, Filya (2002) também observou resultado semelhante. No entanto, Chen e
297 Weinberg (2014), observaram menor produção de ácido acético em silagens de milho
298 inoculadas com *Lactobacillus plantarum*.

299 Os inoculantes podem melhorar a qualidade das silagens quando utilizados de forma
300 correta e associados às boas práticas de manejo na fabricação e distribuição das silagens
301 (Muck 2010). Entretanto, o sucesso dependerá do tipo e das propriedades do aditivo usado,
302 das características da planta ensilada, da microflora epifítica e das técnicas de ensilagem
303 (Henderson e McDonald, 1984).

304

305 **2.6.Reensilagem**

306 Atualmente, alguns fatores têm contribuído para o aumento da exposição aeróbia das
307 silagens antes de sua utilização. No Brasil e em outros países do mundo como Israel (Chen e
308 Weinberg, 2014), um dos principais fatores é a comercialização de silagens entre fazendas.
309 Isto tem ocorrido pelas dificuldades enfrentadas pelos pecuaristas para produzir silagem.
310 Segundo Bernardes e Rêgo (2014), os principais desafios para produção de silagem são a
311 instabilidade climática, a limitação de mão de obra e a limitação financeira que o produtor

312 tem para comprar equipamentos adequados para colheita. Outros fatores envolvidos são a seca
313 prolongada e a disponibilidade de área para plantio de lavouras.

314 Nesse contexto, algumas fazendas têm se especializado na produção de silagem devido
315 à alta demanda desse volumoso no mercado. Porém, essa prática envolve a desensilagem do
316 material na fazenda de origem, e a sua reensilagem na propriedade de destino. Nessa
317 operação, inevitavelmente a silagem é exposta ao ar permitindo a proliferação de
318 microrganismos deterioradores (Chen e Weinberg 2014). Essa exposição aeróbia na
319 reensilagem permite o crescimento das leveduras, que são os primeiros microrganismos
320 indesejáveis a se desenvolverem na presença de oxigênio. A exposição aeróbia pode reduzir a
321 qualidade e a digestibilidade das silagens, devido à redução dos carboidratos solúveis e dos
322 produtos finais da fermentação (Filya et al. 2006).

323 Logo, a presença de oxigênio em silagens pode alterar o valor nutricional da silagem,
324 pois os carboidratos solúveis podem consumidos pelos microrganismos indesejáveis. De
325 acordo com Velho et al. (2006), silagens expostas ao ar podem aumentar os teores de MS,
326 FDN e lignina e reduzir os teores de carboidratos não fibrosos. Chen e Weinberg (2014)
327 verificaram que as silagens de milho reensiladas após a exposição aeróbia de 0, 6, 16, 24 e 48
328 horas, não alteraram o teor de matéria seca e FDN. Entretanto os autores observaram que as
329 digestibilidades *in vitro* da matéria seca (DIVMS), foram menores para as silagens de milho
330 expostas ao ar por 48 horas. Lima et al. (2017) também não observaram diferença no teor de
331 MS, FDN e CNF de silagens de milho reensiladas após exposição aeróbia de 0, 12, 24 e 48
332 horas. No entanto, o teor de lignina foi alterado, mas sem alterar a DIVMS.

333 Em silagens de sorgo expostas ao ar por 24 horas, Michel et al. (2017) verificaram que
334 a reensilagem reduziu a DIVMS. Os autores atribuíram essa redução da DIVMS devido à
335 maior perda por efluentes nas silagens reensiladas. Nessa situação a silagem é compactada
336 duas vezes, resultando em perda de nutrientes devido a lixiviação.

337 O sucesso ou a falha da reensilagem dependerá muito de como os processos de
338 produção da silagem forem conduzidos. Quanto mais rápido for a ensilagem, a desensilagem,
339 o transporte e a reensilagem, maiores serão as chances de reduzir as perdas da silagem. No
340 Brasil e no mundo há poucas informações relacionadas à reensilagem e a utilização de
341 inoculante na silagem.

342

343 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

344

345

- 346 ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Effect of applying inoculants with
347 heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn
348 silage. *J. Dairy Sci.*, v. 94, n. 3, p. 1511-1516, 2011.
- 349 ÁVILA, C. L. S., CARVALHO, B. F., PINTO, J. C. et al. The use of *Lactobacillus* species as
350 starter cultures for enhancing the quality of sugar cane silage. *J. Dairy Sci.*, 97(2), 940-951,
351 2014.
- 352 BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G.; AMARAL, R. C. Top spoilage losses in maize silage
353 sealed with plastic films with different permeabilities to oxygen. *Grass Forage Sci.*, v. 67, p.
354 34-42, 2011.
- 355 BERNARDES, T.F.; REGO, A.C. 2014. Study on the practices of silage production and
356 utilization on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.*, v. 97, p. 1852-1861, 2014.
- 357 BOLSEN, K. K.; LIN, C.; BRENT, B. E. et al. Effect of Silage Additives on the Microbial
358 Succession and Fermentation Process of Alfalfa and Corn Silages. *J. Dairy Sci.*, 75(11), p.
359 3066-3083, 1992.
- 360 CHEN, Y.; WEINBERG, Z. G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages
361 on their quality. *J. Dairy Sci.*, v. 97, n. 1, p. 406-410, 2014.
- 362 CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento | ACOMPANHAMENTO DA SAFRA
363 BRASILEIRA DE GRÃOS | v. 5 - Safra 2017/18, n.2 - Segundo levantamento, novembro
364 2017. p.85-92, 2017.
- 365 DRIEHUIS, F.; WIKSELAAR, P.G.V. The occurrence and prevention of ethanol
366 fermentation in high-dry-matter grass silage. *J. Sci. Food Agric.*, v. 80, p. 711-718, 2000.
- 367 FILHO, I. A. P.; CRUZ, J. C. Cultivo do milho: Plantio, espaçamento, densidade, quantidade
368 de sementes. Comunicado técnico 46. Dezembro 2002, Sete Lagoas – MG.
- 369 FILYA, I.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; WEINBERG, Z. G. 2000. The effect of bacterial
370 inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. *Anim. Feed
371 Sci. Technol.*, v. 88, p. 39-46, 2000.
- 372 FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the
373 fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum
374 silages. *J. Dairy Sci.*, 86(11) p. 3575-81, 2003.
- 375 FILYA, I. Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four
376 stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 116, p. 141-150, 2004.

- 377 FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. The effect of *Propionibacterium acidipropionici*,
378 with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat,
379 sorghum and maize silages. *J. Appl. Microbiol. Oxford*, v. 97, p. 818-826, 2004.
- 380 FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. The effects of *Propionibacterium acidipropionici*
381 and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of
382 low dry matter corn and sorghum silages. *J Ind Microbiol Biotechnol.* v. 33, n. 5, p. 353-358,
383 2006.
- 384 GERLACH, K.; ROß, F.; WEIß, K.; et al. Changes in maize silage fermentation products
385 during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agri, Food Sci.*, Berlin.
386 Germany, v.22, p.168 – 181, 2013.
- 387 GUIMARÃES, P.E.O.; PARENTONI, S.N.; MEIRELLES, W.F. et al. BRS 1055 – Híbrido
388 Simples de Milho. Comunicado Técnico, 176. Sete Lagoas. 2009.
- 389 JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na
390 avaliação da qualidade da forragem conservada. *Rev. Bras. Zootec.* Viçosa, MG. v. 36
391 (Suplemento especial), p. 101-119. 2007.
- 392 KUNG JR, L., SHEPERD, A. C., SMAGALA, A. M. The Effect of Preservatives Based on
393 Propionic Acid on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage and a Total Mixed
394 Ration1. *J. Dairy Sci.*, 81(5), 1322-1330, 1998.
- 395 KUNG JR, L. Silage fermentation and additives. *Sci. Tehcnol. Feed Ind.*, v. 17, p. 145-159,
396 2001.
- 397 LANDAU, E. C.; TEIXEIRA, R. B.; GUIMARÃES, D. P.; HIRSCH, A. Estimativa do
398 Tempo de Florescimento de Milho Plantado na Época de Safrinha: Modelagem Espacial
399 Considerando o Zoneamento de Riscos Climáticos. Circular Técnica, 146. Sete Lagoas. 2010.
- 400 LIMA, E. M. D., GONÇALVES, L. C., KELLER, K. et al. Re-ensiling and its effects on
401 chemical composition, *in vitro* digestibility, and quality of corn silage after different lengths
402 of exposure to air. *Can. J. Anim. Sci.*, 97(2), 250-257, 2017.
- 403 MACEDO, C. H. O.; ANDRADE, A. P.; SANTOS, E. M. et al. Perfil fermentativo e
404 composição bromatológica de silagens de sorgo em função da adubação nitrogenada. *Rev.*
405 *Bras. Saúde Prod. Anim.*, v. 13, n. 2, p. 371-382, 2012.
- 406 MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M; PAIVA, E. Fisiologia da planta de milho. Circular
407 Técnica, 20. Sete Lagoas: Embrapa, 1995.

- 408 McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. *The Biochemistry of Silage*. 2. ed.
409 Chalcombe Publications, 1991.
- 410 MICHEL, P. H. F., GONÇALVES, L. C., RODRIGUES, J. A. S. et al. Re-ensiling and
411 inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on
412 sorghum silages. *Grass Forage Sci.*, 72(3), p.432-440, 2017.
- 413 MOHAMMADZADEH, H.; KHORVASH, M.; GHORBANI, G. R.; YANG, W. Z. Frosted
414 corn silage with or without bacterial inoculants in dairy cattle ration. *Livest. Sci.*, v. 145,
415 p.153-159, 2012.
- 416 MUCK, R. E. Factors influencing silage quality and their implications for management. *J.*
417 *Dairy Sci.*, v. 71, n. 11, p.2992-3002, 1988.
- 418 MUCK, R.E.; BOLSEN, K.K.; Silage preservation and silage additive products. In: Field
419 Guide for Hay and Silage Management in North America. NFIA, 1991. p.105-126.
- 420 MUCK, R. E. Influence of air on the preservation and aerobic spoilage of silages.
421 Transactions of the ASAE, v. 42, n. 3, p.573, 1999.
- 422 MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. *Rev. Bras. Zootec.*
423 Viçosa, MG. v. 39 (Suplemento especial), p.183-191. 2010.
- 424 NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P. de; DIAS, F. N. Importância da qualidade da porção
425 vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. In: Simpósio sobre produção e utilização
426 de forragens conservadas, Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.127-145.
- 427 OLIVEIRA, J.S.; SOBRINHO, F.S.; PEREIRA, R.C. Potencial de utilização de híbridos
428 comerciais de milho para silagem, na região sudeste do Brasil. *Rev. Bras. Milho Sorgo*, v.2,
429 n.1, p.62-71, 2003.
- 430 PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos dos grãos de milho. Cap. 2 In: A
431 cultura do milho. 2008 p.47-61. Embrapa milho e sorgo.
- 432 PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON,
433 D. R.; MUCK, R. E. HARRISON, J. H. (Ed). *Silage science and technology*. Madison:
434 American Society of Agronomy, 2003. (Monografia, 42).
- 435 POSSENTI, R.A.; JUNIOR, E.F.; BUEN. M.S. et al. Parâmetros bromatológicos e
436 fermentativos das silagens de milho e girassol. *Ciência Rural.*, Santa Maria, v.35, n. 5,
437 p.1185-1189, 2005.

- 438 QUEIROZ, O. C. M.; ARRIOLA, K. G.; DANIEL, J. L. P.; ADESOGAN, A.T. Effects of 8
439 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. *J. Dairy Sci.*, v. 96, n. 9,
440 p.5836-5843, 2013.
- 441 RANJIT, N.K.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*,
442 or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy*
443 *Sci.*, v.83, p.526-535, 2000.
- 444 SANTOS, A. O.; ÁVILA, C. L. S.; SCHWAN, R. F. Selection of tropical lactic acid bacteria
445 for enhancing the quality of maize silage. *J. Sairy Sci.*, v. 96, n. 12, p. 7777-7789, 2013.
- 446 TABACCO, E., PIANO, S., CAVALLARIN, L. et al. Clostridia spore formation during
447 aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri*
448 and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *J. Appl. Microbiol.* 107: 1632–1641. 2009.
- 449 TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A.; BORREANI, G. Dry matter and nutritional
450 losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different
451 lactic acid bacteria inocula. *J. Dairy Sci.*, v. 94, p. 1409-1419, 2011.
- 452 TOMICH, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C. et al. Características químicas para
453 avaliação do processo fermentativo: uma proposta para qualificação da fermentação.
454 Documentos, 57. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003.
- 455 USDA – U. S. Departamento of Agricultural. Disponível em:
456 http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity Acessado em: 17 dez.
457 2017.
- 458 USDA - U. S. Departamento of Agricultural. Disponível em:
459 http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity_exports Acessado em: 17
460 dez. 2017.
- 461 VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. 2 ed. New York: Cornell University
462 Press, 1994. 476p.
- 463 VELHO, J. P.; MÜHLBACH, P. R. F.; GENRO, T. C. M. et al. Alterações bromatológicas
464 nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após
465 “desensilagem”. *Ciência Rural*, v. 36, n. 3, p. 916-923, 2006.
- 466 ZHANG, C.; BRANDT, M. J.; SCHWAB, C.; GÄNZLE, M. G. Propionic acid production by
467 cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. *Food*
468 *Microbiol.*, v. 27, p. 390-395, 2010.

- 469 ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em
470 silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. *Rev. Bras.*
471 *Zootec.*, v. 38, supl. especial, p. 170-189, 2009.
- 472 WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E. New trends and opportunities in the development and use of
473 inoculants for silage, *Microbiology Reviews.*, v.19, p.53-68, 1996.
- 474 WEINBERG, Z. G.; CHEN, Y.; GAMBURG, M. The passage of lactic acid bacteria from
475 silage into rumen fluid, *in vitro* studies. *J. Dairy Sci.*, v. 87, n. 10, p. 3386-3397, 2004.
- 476 WOOLFORD, M. K. The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.*, Oxford, v.
477 26. p. 101-116, 1990.

478 **CAPÍTULO 2 – ARTIGO**

479

480

481 **Efeito da reensilagem na qualidade da silagem de milho**482 **P. H. A. de Medeiros,* A. M. Q. Lana,* L. C. Gonçalves,* J. A. S. Rodrigues,† K. M.**483 **Keller,‡ E. M. de Limas,* F. C. O. Silva,* J. R. da Glória,* E. O. S. Saliba,* A. C. C.**484 **Borges,* e D. G. Jayme***

485 *Departamento de Zootecnia, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas

486 Gerais, Minas Gerais, 30161-970, Brasil

487 †Embrapa Milho e Sorgo, Minas Gerais, 35701-970, Brasil

488 ‡Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Medicina Veterinária,

489 Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 30161-970, Brasil

490

Resumo

491 A reensilagem é uma prática crescente no Brasil e no mundo devido ao aumento da
492 comercialização de silagens entre fazendas. Nessa prática, a silagem armazenada em uma
493 fazenda é desensilada, transportada, e ensilada novamente em outra fazenda. Durante o
494 processo, a silagem fica exposta ao ar até ser reensilada. Isto pode resultar em perdas de valor
495 nutricional e da qualidade do material. Para reduzir essas perdas alguns inoculantes
496 bacterianos têm sido utilizados. Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de
497 inoculante bacteriano em silagem de milho. Os tratamentos foram a exposição aeróbia por 0
498 ou 18h com ou sem aplicação de inoculante. O inoculante utilizado na ensilagem foi a
499 associação *Lactobacillus plantarum* e *Propionobacterium acidipropionici*. A forragem foi
500 armazenada em mini silos experimentais e a densidade foi de 500 kg/m³. A composição
501 química, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), o perfil fermentativo, a

502 contagem de microrganismos, perdas de matéria seca e a estabilidade aeróbia do material
503 foram avaliadas. A reensilagem reduziu 14,5% do teor de carboidratos não fibrosos (CNF) e
504 aumentou o teor de fibra em detergente neutro (FDN). A DIVMS reduziu 6% nas silagens
505 reensiladas. Além disso, a reensilagem promoveu maiores perdas por gases, por efluentes e de
506 matéria seca total. Também houve menor teor de ácido lático e maior teor de ácido acético nas
507 silagens de milho reensiladas. Entretanto, a DIVMS aumentou 4,6% nas silagens inoculadas.
508 A reensilagem reduziu o valor nutritivo e a DIVMS das silagens de milho. Além disso, a
509 reensilagem aumentou consideravelmente as perdas de matéria seca total (acima de 20%). O
510 inoculante bacteriano não foi eficaz em reduzir as perdas nas silagens, alterar a composição
511 química e o perfil fermentativo, porém aumentou a digestibilidade da matéria seca.

512 **Palavras chave:** estabilidade aeróbia, deterioração aeróbia, *Lactobacillus plantarum*,
513 *Propionobacterium acidipropionici*

514 INTRODUÇÃO

515 A conservação de forragens frescas por meio da ensilagem ocorre em meio anaeróbio, via a
516 fermentação láctica. As bactérias lácticas convertem os carboidratos solúveis em ácidos
517 orgânicos, principalmente em ácido lático, e desta forma reduzem o pH da silagem. Assim, o
518 material fica protegido da ação de microrganismos aeróbios como os fungos e as leveduras,
519 que são os principais causadores da deterioração aeróbia e redução da qualidade fermentativa
520 e do valor nutricional da silagem (Michel et al., 2017; Pahlow, 2003).

521 A silagem é o principal alimento utilizado na dieta de vacas leiteiras (Weinberg et al., 2004).
522 No Brasil, a silagem de milho é a principal fonte de energia e fibra na dieta de vacas leiteiras
523 (Bernardes e Rêgo 2014). Assim, as perdas decorrentes da fermentação e da exposição
524 aeróbia da silagem poderão comprometer o balanceamento da dieta e o desempenho dos
525 animais.

526 Alguns fatores têm contribuído para o aumento da exposição aeróbia da silagem antes do
527 fornecimento aos animais. Um dos principais fatores é a comercialização de silagem entre
528 fazendas, que é cada vez mais frequente no Brasil e em outros países do mundo (Chen e
529 Weinberg, 2014). Esta prática envolve a reensilagem, que é um processo em que há a
530 desensilagem do material conservado, seguida do transporte e reensilagem no local de
531 destino. Nessa operação, inevitavelmente a silagem é exposta ao ar permitindo a proliferação
532 de microrganismos deterioradores (Chen e Weinberg 2014). A comercialização de silagem é
533 cada vez mais frequente devido à instabilidade climática e a dificuldade que as fazendas
534 encontram em ter maquinário e mão de obra especializada para a produção de silagem (Lima
535 et al., 2017). Além disso, existem fazendas se especializando na produção de silagem devido à
536 intensa procura desse volumoso no mercado. A reensilagem permite as fazendas que tem uma
537 área limitada para a formação de lavouras otimizarem as suas produções pelo melhor
538 aproveitamento das áreas.

539 A reensilagem pode predispor o crescimento de fungos e leveduras e reduzir a qualidade da
540 silagem. Portanto, para reduzir as possíveis perdas de valor nutricional e perdas de matéria
541 seca da reensilagem, alguns inoculantes bacterianos têm sido utilizados. Os estudos sobre o
542 efeito da reensilagem e do uso de inoculante em silagens são recentes. Ainda não há
543 informações sobre a reensilagem e o uso de inoculante com *Lactobacillus plantarum* e
544 *Propionobacterium acidipropionici* na qualidade das silagens de milho.

545 Objetivou-se determinar o efeito da reensilagem e do uso de inoculante com a bactéria láctica
546 heterofermentativa facultativa *Lactobacillus plantarum* e a bactéria propiônica
547 *Propionobacterium acidipropionici* na qualidade da silagem de milho.

548

549

MATERIAL E MÉTODOS

550 *Plantio, colheita e ensilagem*

551 A lavoura de milho do cultivar BRS 1055 foi plantada em novembro de 2013 na área
552 experimental da Embrapa Milho e Sorgo, situada em Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
553 (19°28'S, 44°15'W, altitude 732 m). O espaçamento utilizado foi de 70 cm entrelinhas e de
554 4,5 cm entre as plantas na mesma linha.

555 A adubação de plantio foi feita com 400 kg/ha de 8-28-16 (NPK) + 0,5% Zn, de acordo com a
556 análise de solo. Posteriormente, foram aplicados 100 kg de nitrogênio por hectare em
557 cobertura na lavoura, após 30 dias de plantio.

558 Quando a linha de leite atingiu um terço do grão a lavoura foi colhida e picada no tamanho de
559 partícula entre 1-2 cm com ensiladeira convencional (JF C120 AT; JF Máquina de agricultura,
560 Itapira, Brasil).

561 A forragem picada foi amostrada (800g de amostra por bloco) para análise do material fresco
562 antes da aplicação do inoculante. Após este procedimento, metade da forragem picada foi
563 pesada e inoculada. A outra metade sem aplicação de inoculante foi pesada e adicionado
564 200ml de água destilada para cada 100kg da forragem fresca. O inoculante utilizado foi
565 composto pela bactéria heterofermentativa *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U e pela bactéria
566 propiônica *Propionibacterium acidipropionici* MA26/4U na quantidade de 2,5 x 10 Unidades
567 Formadoras de Colônia por grama de produto (UFCg-1) para cada microrganismo (Biomax
568 Milho; Lallemand, Saint-Simon, França). A aplicação ocorreu no momento da ensilagem. O
569 produto foi diluído em água destilada sob temperatura ambiente na proporção de um grama
570 por litro, e foi pulverizado com bomba costal de forma constante sobre o milho e misturado,
571 de acordo com a recomendação do fabricante. A silagem sem aplicação de inoculante também
572 foi adicionada a mesma quantidade e proporção de água destilada das silagens com
573 inoculante.

574 Em cada silo foi depositado 10kg ± 0.1 kg de forragem picada, e foi feita a compactação
575 manual dos silos experimentais. A densidade dos silos foi 500 kg/m³. Em cada bloco havia os

576 quatro tratamentos, totalizando 20 silos experimentais. Estes eram baldes plásticos com
577 capacidade de armazenamento de 20L equipados com tampa provida de válvula tipo Bunsen
578 para permitir somente a saída de gases. No interior de cada balde foi colocado um saco de
579 algodão, com aproximadamente 2kg de areia seca, para quantificação do efluente produzido.

580 ***Exposição aeróbia***

581 Após 56 dias da ensilagem, os silos correspondentes ao tratamento reensilagem foram abertos.
582 A silagem foi retirada dos silos, ficou exposta ao ar por 18 horas e posteriormente foi
583 reensilada. Esse procedimento ocorreu em um galpão, com início as quatorze horas do dia 07
584 de novembro de 2014. Durante a exposição aeróbia, a temperatura oscilou entre 23.5 e
585 29.6°C, enquanto a umidade relativa do ar esteve entre 39 e 67%, de acordo com os dados da
586 estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil 116 (INMET) localizada
587 a 2,4 quilômetros do local.

588 Após 60 dias da reensilagem os silos experimentais foram abertos. As amostras foram
589 retiradas para as análises da composição bromatológica, digestibilidade *in vitro*, parâmetros
590 fermentativos (pH, N-NH₃, ácidos láctico, acético, propiônico e butírico), perdas do material
591 (perdas por gás, por efluentes e de matéria seca total), estabilidade aeróbia, além da contagem
592 de fungos, leveduras e bactérias.

593 ***Delineamento Experimental***

594 A reensilagem após a exposição aeróbia por 18 horas e a aplicação do inoculante na
595 ensilagem foram estudadas no trabalho. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial
596 2 x 2, com cinco repetições em cada bloco. O primeiro fator foi a prática ou não da
597 reensilagem, e o segundo foi a aplicação ou não do inoculante. O delineamento experimental
598 foi em blocos ao acaso com cinco repetições.

599 ***Análises químicas e digestibilidade in vitro da matéria seca***

600 As amostras da forragem fresca foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por
601 72 horas, e logo após foram processadas em moinho com peneira de um mm (Thomas Wiley
602 Model 4, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ). O teor de MS a 105°C, cinzas, proteína bruta
603 (PB) e extrato etéreo (EE), foram determinados de acordo com AOAC (1995).

604 Os componentes da parede celular foram obtidos pelo método sequencial (fibra em detergente
605 neutro – FDN, fibra em detergente ácido – FDA e lignina), conforme Van Soest et al. (1991).

606 Na análise da FDN foi utilizado a α -amilase termoestável

607 Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de cinzas e PB.

608 Esses valores foram usados para corrigir a FDN e a FDA para cinzas e proteína (FDN_{cp} e

609 FDA_{cp}). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados usando a equação; CNF = 100

610 - (% FDN_{co} + % PB + % EE + % Cinzas) onde FDN_{co} é a quantidade de fibra em detergente

611 neutro corrigido; PB é a quantidade de proteína bruta e EE é a quantidade de extrato etéreo.

612 A Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada segundo metodologia

613 descrita por Tilley e Terry (1963), adaptada por Holden (1999) para utilização do simulador

614 de rúmen DAISYII device (ANKOM Technology, Fairport, New York, USA). O líquido

615 ruminal foi coletado de um bovino fistulado alimentado com uma dieta composta de 10 kg

616 (MS) de silagem de milho e 3 kg (MS) de um concentrado comercial com 24% proteína bruta.

617 ***Análises dos parâmetros fermentativos***

618 O suco da silagem foi extraído utilizando uma prensa hidráulica (2.5 kgf cm⁻²), para

619 determinar os valores de pH, de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), de ácidos orgânicos. Os

620 valores de pH foram obtidos utilizando-se o pHmetro HI 221 (Hanna instruments, EUA). A

621 concentração de nitrogênio amoniacal foi obtida com a destilação no equipamento de Kjeldahl

622 com óxido de magnésio e cloreto de cálcio como meio para a neutralização da amônia,

623 empregando-se solução receptora de ácido bórico e titulação com ácido clorídrico a 0,1 N. Os

624 teores dos ácidos orgânicos foram obtidos por meio de cromatografia gasosa (Cromatógrafo

625 de gás Shimadzu GC-17) equipado com um detector de ionização de chama e com uma
626 coluna capilar Nukol de acordo com a metodologia descrita por Playne (1985). O
627 cromatógrafo de gás foi operado de forma isotérmica com uma temperatura de coluna de
628 200°C e uma temperatura de entrada e detector de 225°C.

629 Os valores de pH das amostras submetidas ao teste de estabilidade aeróbica foram
630 determinados. A silagem fresca (9 g) foi dissolvida em 60 mL de água destilada e os valores
631 de pH foram medidos após 30 minutos (Silva e Queiroz, 2002).

632 *Análises de perdas*

633 O peso dos silos experimentais vazios + tampa + saco com areia seca foi registrado antes da
634 ensilagem. Após o enchimento com a forragem, compactado, tampados e vedados com fita
635 adesiva, e os silos foram pesados novamente.

636 Após 56 dias os silos pertencentes ao tratamento reensilagem foram desensilados e pesados
637 cheios e vazios após a retirada da forragem para determinação da produção de gases e de
638 efluentes. A forragem foi amostrada para determinação do teor de matéria seca. A areia
639 depositada no fundo de cada silo foi substituída, e o conjunto balde + tampa + saco com areia
640 seca foi pesado novamente. A forragem foi reensilada após 18 horas de exposição aeróbia.
641 Após o enchimento e vedação dos silos, os baldes foram pesados novamente para determinar
642 o peso total.

643 Após 60 dias da reensilagem, todos os silos cheios foram pesados para a determinação das
644 perdas por gases conforme a fórmula:

$$645 \quad G = [(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pen) * MSab] \times 100$$

$$646 \quad [(PCen - Pen) * MSen]$$

647 Em que:

648 $G =$ Perdas por gases em (% MS);

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

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

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

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

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

654

655 Em seguida, a silagem foi retirada e o conjunto foi pesado para determinar às perdas por
656 efluentes, conforme a fórmula:

657 $PE = Pef \times 1000$

658 MVi

659 Em que:

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

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

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

664 A perda total de matéria seca foi estimada pela diferença entre o peso bruto de massa seca
665 inicial e final dos silos experimentais em relação à quantidade de massa seca ensilada,
666 descontados o peso do conjunto na ensilagem e na abertura (Jobim et al., 2007), conforme a
667 equação:

668 $PMS = [(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pab) * MSab] \times 100$

669 $[(PCen - Pen) * MSen]$

670 Em que:

671 PMS = Perda total de MS (%);

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

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

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

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

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

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

678 A metodologia utilizada nesse trabalho para a análise de perdas foi descrita por Schmidt
679 (2006). As perdas por gases, por efluentes e as perdas totais de matéria seca das silagens
680 reensiladas, foram obtidas pelo somatório das perdas ocorridas durante a abertura para a
681 desensilagem e a abertura final.

682 ***Teste de estabilidade aeróbia***

683 Os baldes plásticos (diâmetro de 28 cm) contendo 1,5 kg de silagem por repetição foram
684 alojados em sala climatizada à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ para avaliação da estabilidade
685 aeróbia. A temperatura da silagem foi monitorada a cada 10 minutos com a ajuda de um
686 registrador de dados de temperatura inserido a 15 cm no centro da massa. Além disso, em
687 outro conjunto de baldes foi colocado 1,5 kg de silagem para rastrear as mudanças nas
688 contagens microbianas e de pH. As amostras desses baldes foram retiradas nos dias 0, 2, 6 e
689 10 após a abertura dos silos. A deterioração aeróbia foi considerada quando a temperatura da
690 silagem atingisse 2°C de diferença da temperatura ambiente (Ranjit e Kung, 2000). Após o
691 teste de estabilidade aeróbia os microrganismos foram contados em amostras de silagem.

692 ***Análises microbiológicas***

693 A contagem de microrganismos aeróbios (leveduras, fungos e bactérias) foi feita pelo método
694 de diluição em placas usando os seguintes procedimentos. A contagem total de bactérias foi
695 determinada aerobicamente usando o meio de cultura ágar (PCA-BD™ Difco, Sparks, MD,

696 USA) após 1 a 3 dias de incubação a 36 +1 °C. A contagem total de leveduras foi determinada
697 usando meio de cultura Triptona Glicose Extrato de Levedura Ágar (TGY, de acordo com Pitt
698 e Hocking, 2009) após a incubação aeróbia por 1 a 3 dias a 30 +1 °C. A contagem total de
699 fungos foi determinada utilizando meio de cultura Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol
700 Ágar (DRBC, de acordo com Pitt e Hocking, 2009) após a incubação aeróbia por 5-7 dias a 25
701 +1 °C. Todas as placas foram examinadas diariamente para avaliar os tipos e as características
702 morfológicas de cada colônia em cada meio. A contagem microbiana total foi expressa como
703 unidade formadora de colônias (UFC).

704 *Análises estatísticas*

705 Os resultados para composição bromatológica, digestibilidade *in vitro*, qualidade de silagem,
706 perdas, estabilidade aeróbia, além da contagem total de leveduras, fungos e bactérias, foram
707 submetidos à análise estatística em esquema fatorial 2 x 2 em blocos ao acaso com cinco
708 repetições. Todas as contagens foram transformadas em logaritmo na base 10 para ter a
709 distribuição de probabilidade normal.

710 Os dados foram submetidos à análise de variância. Quando houve interação significativa,
711 foram realizadas análises adicionais de efeitos simples (ANOVA). Em casos de interação não
712 significativa, os fatores foram comparados separadamente pelo teste de F a 5% de
713 significância. A análise foi realizada utilizando o software PROC GLM da SAS (SAS
714 Institute Inc., Cary, NY, EUA).

715 **RESULTADOS**

716 A composição bromatológica da planta de milho antes da ensilagem e aplicação do inoculante
717 foi: 298.35 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
718 FDA e 36.59 g/kg⁻¹ EE.

719 A reensilagem e o inoculante bacteriano não afetaram os teores de MS, PB e FDA da silagem
720 de milho (Tabela 1). Entretanto, a reensilagem reduziu 14,5% do teor de CNF e aumentou os

721 teores de FDN em 5,7% e cinzas em 8% das silagens de milho. A reensilagem também
722 reduziu 6% a DIVMS das silagens e a aplicação do inoculante aumentou 4,63%. O teor de EE
723 foi maior nas silagens com inoculante.

724 A reensilagem e a aplicação do inoculante não influenciaram os valores de pH, NH₃-N/NT,
725 ácido propiônico e ácido butírico das silagens (Tabela 2). No entanto, a reensilagem reduziu
726 29% do teor de ácido lático e aumentou em 50% o teor de ácido acético nas silagens de milho.

727 As silagens reensiladas apresentaram maiores perdas por gases, por efluentes e perdas totais
728 (Tabela 2). Os aumentos foram em 33% nas perdas por gases, em 36,5% nas perdas por
729 efluentes e em 36,5% nas perdas totais. O uso do inoculante não influenciou essas variáveis.

730 A reensilagem e o inoculante microbiológico não influenciaram a estabilidade aeróbia das
731 silagens de milho (Tabela 3). O mesmo foi observado na contagem de bactérias, leveduras e
732 fungos após a abertura dos silos experimentais. Porém, após a quebra da estabilidade aeróbia
733 foi observado menor contagem de fungos das silagens inoculadas.

734 **DISCUSSÃO**

735 Durante a exposição aeróbia, a massa ensilada fica susceptível à ação e crescimento de
736 microrganismos aeróbios (Woolford, 1990) e anaeróbios facultativos. Assim, pode ocorrer
737 deterioração aeróbia das silagens expostas ao ar, com perda de valor nutritivo (Filya et al.,
738 2006). O nível das perdas nutricionais e da matéria seca na silagem dependerá da qualidade
739 do material ensilado e do tempo da exposição aeróbia (Chen e Weinberg, 2014; Lima et al.,
740 2017). Além da eficiência dos processos durante a confecção das silagens como a
741 compactação, o tempo de enchimento e a vedação do silo.

742 Neste estudo, 18 horas de exposição aeróbia alterou a composição química e a DIVMS das
743 silagens. A reensilagem reduziu 14,5% do teor de CNF em relação às silagens controle. Os
744 CNF são os carboidratos solúveis utilizados pelas bactérias para a produção de ácidos
745 orgânicos. Em aerobiose as bactérias acéticas e bactérias lácticas heterofermentativas

746 facultativas utilizam os carboidratos solúveis para produzir ácido acético. O teor de CNF é
747 reduzido em decorrência do maior consumo dos carboidratos solúveis. Como consequência,
748 ocorre uma maior concentração do conteúdo de FDN, que é um componente da parede celular
749 das plantas. Segundo Michel (2017), a maior concentração da fração fibrosa da silagem, é
750 decorrente da ação de fungos e leveduras que consomem os carboidratos solúveis. De acordo
751 com Muck (2010), em meio aeróbio as bactérias acéticas também podem consumir os
752 carboidratos solúveis. Os dados da literatura evidenciam que em termos de proporção e
753 concentração, a exposição aeróbia causa aumento das frações fibrosas da silagem (Tabacco et
754 al., 2011). Como os CNF são compostos orgânicos de alta digestibilidade, a sua redução na
755 silagem pode resultar em menor digestibilidade do alimento (McDonald et al., 1991). Nesse
756 sentido, a DIVMS foi reduzida em 6% nas silagens reensiladas. Essa menor DIVMS das
757 silagens de milho reensiladas está relacionada à redução dos teores de CNF e a maior
758 proporção de FDN nessas silagens. Outro fator que contribui para a redução da DIVMS são as
759 perdas elevadas por efluentes (acima de 35%) e de MS na silagem reensilada (acima de 35%).
760 Nesse caso, haverá menor disponibilidade de nutrientes digestíveis na MS e perdas por
761 efluentes devido à lixiviação dos nutrientes. A maior perda por efluentes das silagens de
762 milho reensiladas possivelmente ocorreu devido às duas compactações realizadas, uma na
763 ensilagem e outra na reensilagem. Essas compactações resultaram em maior perda de água
764 (Michel et al., 2017) e nutrientes nas silagens reensiladas. Assim, a exposição aeróbia da
765 silagem durante a desensilagem, transporte e reensilagem, pode comprometer o valor nutritivo
766 da silagem, devido à menor disponibilidade de nutrientes digestíveis.

767 A DIVMS foi maior 4,6% para as silagens inoculadas em relação às silagens sem inoculante.
768 Segundo Weinberg et al. (2003) e Weinberg et al. (2007), a inoculação de silagens com
769 *Lactobacillus plantarum* pode otimizar o desempenho animal, independentemente se há
770 melhora no processo fermentativo da silagem. Isto é possível devido a *Lactobacillus*
771 *plantarum* sobreviver nas condições ruminais (Weinberg et al., 2003). Os resultados de

772 pesquisas que associam bactérias lácticas ao melhor desempenho dos animais, atribuem este
773 resultado à maior digestibilidade da fibra e mudanças na fermentação ruminal (Weinberg et
774 al., 2007). Estes autores verificaram maior DIVMS e da digestibilidade da fibra de silagens de
775 milho inoculadas com bactérias lácticas. Entretanto, as bactérias lácticas não têm a capacidade
776 de degradar a fibra (Rooke e Hatfield, 2003). Neste contexto, Weinberg et al. (2003)
777 verificaram a capacidade de bactérias lácticas tamponarem o rúmen, e assim evitar a queda de
778 pH. Como as bactérias celulolíticas que degradam a fibra reduzem a ação em meio em que o
779 pH está baixo, esse tamponamento promovido pela *Lactobacillus plantarum* manteria o pH
780 mais elevado e favoreceria sua ação (Muck 2013). Porém, efeitos ditos não mensuráveis
781 também foram apontados como justificativa para a melhora na digestibilidade de silagens
782 inoculadas (Silva et al., 2006). Os resultados relacionados à maior DIVMS em silagens
783 inoculadas com *Lactobacillus plantarum* são variáveis. No entanto, nenhum desses resultados
784 citados tem associação da *Lactobacillus plantarum* com a *Propionibacterium acidipropionici*.
785 Em experimentos com associação da *Lactobacillus plantarum* à *Propionibacterium*
786 *acidipropionici* não houve melhora na DIVMS das silagens (Michel et al., 2017; Chen e
787 Weinberg 2014; Filya et al., 2006). Nesse trabalho, a maior DIVMS para a silagem com
788 inoculante pode estar associada à maior digestibilidade da fibra, pois não houve diferença no
789 teor de CNF e FDN entre a silagem controle e a inoculada.

790 Dentre os parâmetros avaliados na composição bromatológica das silagens, apenas o extrato
791 etéreo foi influenciado pelo inoculante, que foi maior para as silagens inoculadas. Entretanto,
792 essa alteração é pouco relevante na prática, pois o extrato etéreo não compromete o processo
793 fermentativo da silagem.

794 O teor de MS da forragem fresca foi 16% inferior à MS da silagem. É importante ressaltar que
795 o volume de água destilada (dois litros) aplicado na forragem fresca antes da ensilagem não é
796 suficiente para reduzir o teor de MS da silagem (Michel et al., 2017). Em silagens de sorgo,
797 Michel et al. (2017) observaram diminuição de 10% no teor de MS da forragem fresca em

798 relação à silagem. A redução da MS foi maior nesse estudo, e pode ser justificada pela maior
799 produção média de ácido láctico em nossas silagens (54.36 vs 32.182 g/kg⁻¹) do que o
800 observado por Michel et al., (2017), pois a produção de ácido láctico resulta em produção de
801 água (McDonald et al., 1991). Outro fator que contribuiu para a maior redução da MS, foi a
802 maior produção média de ácido acético em nosso estudo (20,35 vs 15,66 g/kg⁻¹). Segundo
803 Muck (2010), a água também é um dos produtos da conversão de açúcares e lactato pelas
804 bactérias acéticas. Portanto, a maior produção de água foi resultado do aumento de ácidos
805 orgânicos. A temperatura durante a exposição aeróbia também pode influenciar as perdas de
806 MS. Michel et al. (2017) observou temperatura média de 21,8 °C (20 a 26°C) durante a
807 exposição aeróbia, enquanto neste estudo a temperatura variou de 23.5 a 29.6°C. As
808 temperaturas mais elevadas favorecem a deterioração da silagem.

809 Os parâmetros da qualidade fermentativa estão de acordo com os valores propostos por
810 McDonald et al. (1991) para silagens de milho de boa qualidade. Entretanto, a reensilagem
811 aumentou em 25% a produção de ácido acético em relação à silagem controle. Essa
812 concentração superior de ácido acético para as silagens reensiladas pode estar relacionado ao
813 crescimento de bactérias acéticas e lácticas heterofermentativas facultativas. A exposição
814 aeróbia da silagem favorece o crescimento desses microrganismos que são produtores de
815 ácido acético (Pahlow, 1991). Segundo Muck (2010), os valores de pH observado nas
816 silagens, e a aerobiose, permitem o crescimento das bactérias acéticas. Além do mais, as
817 bactérias lácticas heterofermentativas facultativas produzem o ácido acético (Pahlow, 2003). A
818 reensilagem também reduziu em 35% os teores de ácido láctico em relação às silagens
819 convencionais. Essa redução do ácido láctico pode ser justificada devido ao crescimento de
820 microrganismos aeróbios deterioradores, como fungos, leveduras e algumas bactérias, apesar
821 da contagem microbiológica não ter sido suficiente para promover diferença estatística. Esses
822 microrganismos utilizam os ácidos graxos voláteis como substrato. Logo, um dos principais
823 produtos consumidos é o ácido láctico, que pode ser utilizado por leveduras, e resulta em

824 produção de CO₂ e água (Tabacco et al., 2011). Apesar do aumento da produção de ácido
825 acético, e a redução do teor de ácido láctico nas silagens reensiladas, os valores de pH não
826 foram alterados nessas silagens.

827 O estágio de maturação da planta no momento da colheita, o tamanho de partícula, o tempo de
828 enchimento e a vedação do silo durante a confecção das silagens são determinantes para a
829 ocorrência e a gravidade das perdas de MS. Estas perdas podem variar de 3 a 25%, e os
830 principais fatores envolvidos são a presença de oxigênio (deterioração aeróbia), a produção de
831 CO₂ por microrganismos anaeróbios e as perdas por efluentes (Pitt, 1986), além das reduções
832 por gases. As elevadas perdas de MS nesse estudo (acima de 25%), pode ser um resultado da
833 maior quantidade de ácido acético produzido. Isto está alinhado com o teor de MS da planta
834 no momento da ensilagem e com o menor teor de MS observado após o armazenamento. A
835 reensilagem também promoveu elevadas perdas por gases, o que contribuiu com as maiores
836 perdas de MS total. A exposição aeróbia é um dos fatores que pode resultar em maior
837 produção de gases na silagem. O CO₂ é o principal gás formado na fermentação de silagens e
838 sua produção ocorre por meio do oxigênio residual da planta ensilada, ou pela penetração de
839 O₂ na silagem (Pahlow, 2003), como na reensilagem. Além disso, as bactérias anaeróbicas
840 produzem maiores quantidades de CO₂ na fermentação de carboidratos solúveis e ácidos
841 orgânicos (Pahlow, 2003). As perdas de matéria seca observadas podem auxiliar na tomada de
842 decisão na compra das silagens e no planejamento forrageiro das propriedades.

843 O aumento do teor de cinzas das silagens de milho reensiladas pode ser explicado pela maior
844 perda de MS. Segundo Muck (1999), as silagens de milho em aerobiose têm maior conteúdo
845 de cinzas. Os microrganismos aeróbios são os principais responsáveis por elevadas perdas de
846 MS (Woolford, 1990). As enterobactérias (anaeróbicas facultativas) são os principais
847 microrganismos produtores de gases, sendo o ácido acético o principal produto da
848 fermentação dessas bactérias, além disso competem com as bactérias lácticas pelos açúcares

849 (Muck, 2010). As bactérias acéticas são importantes na deterioração aeróbia da silagem de
850 milho (Spoelstra et al., 1987)

851 A estabilidade aeróbia da silagem confere resistência à deterioração aeróbia quando a massa
852 ensilada está susceptível à penetração de O₂. A reensilagem e a aplicação de inoculante
853 bacteriano não afetaram a estabilidade aeróbia das silagens. Nesse estudo, houve menor
854 contagem de fungos nas silagens inoculadas após a perda da estabilidade aeróbia, mas sem
855 benefício para a estabilidade aeróbia. Possivelmente, não houve maior estabilidade aeróbia
856 das silagens devido à contagem das leveduras serem semelhantes entre as silagens com e sem
857 inoculante após a perda da estabilidade. As leveduras são os primeiros microrganismos
858 aeróbios a crescerem quando há exposição aeróbia. E de acordo com os dados da literatura, a
859 contagem de fungos tem aumento significativo em torno de oito dias após exposição ao ar
860 (Gerlach et al., 2013). Em decorrência disso, a menor contagem de fungos nas silagens
861 inoculadas não influenciou a estabilidade aeróbia.

862 A reensilagem promoveu maior produção de ácido acético, e isto poderia contribuir para o
863 aumento da estabilidade aeróbia das silagens. De acordo com Muck (2010), o ácido acético
864 pode aumentar a estabilidade aeróbia da silagem por ser eficiente na inibição de fungos e
865 leveduras. No entanto, a maior produção de ácido acético nas silagens reensiladas não
866 beneficiou a estabilidade aeróbia.

867 A reensilagem e a aplicação de inoculante bacteriano não influenciaram a contagem
868 microbiológica. As leveduras e fungos são os principais microrganismos envolvidos na
869 deterioração aeróbia das silagens de milho (Muck, 1988; Pahlow et al., 2003). Para que haja a
870 deterioração aeróbia, a contagem de leveduras deve ser superior à $9 \log_{10}$ UFC por g⁻¹, e a
871 contagem de fungo $8 \log_{10}$ UFC por g⁻¹ de silagem (Pitt, 1991). Os valores encontrados na
872 abertura da silagem estavam abaixo dos valores citados por Pitt (1991). Assim, não houve
873 comprometimento da qualidade das silagens. Após a perda da estabilidade aeróbia, a
874 contagem de leveduras estava acima de $9 \log_{10}$ UFC por g⁻¹ e a contagem de fungos estava

875 abaixo de $8 \log_{10}$ UFC por g^{-1} , que são os valores de referência para a ocorrência da
876 deterioração aeróbia (Pitt 1991). Isto ocorre em função das leveduras constituírem os
877 primeiros microrganismos deterioradores a crescerem nas silagens.

878 De modo geral, a reensilagem não influenciou a estabilidade aeróbia das silagens (em média
879 de 208,2 horas após a exposição aeróbia). Como houve maior produção de ácido acético nas
880 silagens expostas ao ar, isto pode ter sido a causa da estabilidade aeróbia não diferir entre os
881 tratamentos, pois também não houve influência da reensilagem na contagem de fungos e
882 leveduras. A reensilagem reduziu o valor nutritivo e a DIVMS das silagens, podendo resultar
883 em maior necessidade de inclusão de concentrado na dieta dos animais.

884 **CONCLUSÃO**

885 A reensilagem após 18 reduziu o valor nutritivo e a DIVMS da silagem de milho. Além disso,
886 promoveu maiores perdas por gases, efluentes e de matéria seca total.

887 O uso de inoculante com associação de *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium*
888 *acidipropionici* não foi eficiente para evitar a redução do valor nutritivo e as perdas por
889 gases, efluentes e de matéria seca total da silagem de milho reensilada. Porém, aumentou a
890 digestibilidade da matéria seca.

891

892 **Agradecimentos**

893

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

898

899 **Referências**

900

- 901 AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis. 16th ed. AOAC International,
902 Gaithersburg, MD.
- 903 Bernardes, T.F.; Rego, A.C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization
904 on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 97:1852-1861.
- 905 Chen, Y., and Z. G. Weinberg, 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn
906 silages on their quality. *J. Dairy Sci.* 97:406–410.
- 907 de Lima, E. M., L. C. Gonçalves, K. M. Keller, J. A. dos Santos Rodrigues, F. P. C. Santos, P.
908 H. F. Michel, V. S. Raposo, and D. G. Jayme. 2017. Re-ensiling and its effects on
909 chemical composition, *in vitro* digestibility, and quality of corn silage after different
910 lengths of exposure to air. *Can. J. Anim. Sci.* 97:250–257.
- 911 Filya, I., E. Sucu, and A. Karabulut. 2006. The effects of *Propionibacterium acidipropionici*
912 and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic
913 stability of low dry matter corn and sorghum silages. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*
914 33:353–358.
- 915 Gerlach, K.; Rob, F.; Weib, K.; BÜscher, W.; SÜdekum, K. 2013. Changes in maize silage
916 fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by
917 goats. *AFSci.* 22:168-181.
- 918 Holden, L. A. 1999. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds.
919 *J. Dairy Sci.* 82:1791-1794.
- 920 Jobim, C. C., L. G. Nussio, R. A. Reis, and P. Schmidt. 2007. Methodological advances in
921 evaluation of preserved forage quality. *R. Bras. Zootec.* 36:101–119.
- 922 McDonald, P., A. R. Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd
923 ed. Chalcombe Publications, Bucks, UK.
- 924 Michel, P.H.F.; Jayme, D.G.; Gonçalves, L.C.; Rodrigues, J.A.S.; Keller, K.M.; Raposo, V.S.;
925 Lima, E.M.; Santos, F.P.C. 2017. Re-ensiling and inoculant application with

- 926 *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages.
927 Grass Forage Sci. p. 1-9.
- 928 Muck, R. E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management.
929 J. Dairy Sci. 71:2992-3002.
- 930 Muck, R. E. 1999. Influence of air on the preservation and aerobic spoilage of silages.
931 Transactions of the ASAE, 42:573-581.
- 932 Muck, R. E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. R. Bras. Zootec.
933 39:183–191.
- 934 Muck, R. E. 2013. Recent advances in silage microbiology. AFSci. 22:3-15.
- 935 Pahlow, G., R. E. Muck, F. Driehuis, S. J. W. H. Oude Elferink, and S. F. Spoelstra. 2003.
936 Chapter 2: Microbiology. Pages 31-93 in Silage Science and Technology, Agronomy
937 Monograph 42. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. American Society of
938 Agronomy, Madison, WI.
- 939 Pahlow, G. 1991. Role of microflora in forage conservation. In: PAHLOW, G.; HONIG, H.
940 (Eds.) FORAGE CONSERVATION TOWARDS 2000. 1.ed. Braunschweig: European
941 Grassland Federation, p.26-36.
- 942 Pitt, R.E. 1986. Dry Matter Losses Due to Oxygen Infiltration in Silos. J, agric, Engng Res.
943 35:193-205.
- 944 Pitt, R. E., Muck, R. E., Pickering, N. B. 1991. A model of aerobic fungal growth in silage.
945 Grass Forage Sci. 46:301-312.
- 946 Pitt, J. I. and A. D. Hocking. 2009. Fungi and Food Spoilage. 3rd ed. Springer US, New York
947 City.
- 948 Playne, M.J. 1985. Determination of ethanol, volatile fatty acids, acetic and succinic acids in
949 fermentation liquids by gas chromatography. J. Sci. Food Agric.36: 638-644.

- 950 Ranjit, N. K., and L. Kung Jr. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus*
951 *plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn
952 silage. J. Dairy Sci. 83:526–535.
- 953 Rooke, J. A., R. D. Hatfield. 2003. Biochemistry of ensiling. Silage Science and Technology.
954 D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. Am. Soc. Agron., Madison, WI. P.
955 95-139.
- 956 Spoelstra, S. F. 1987. Degradation of nitrate by enterobacteria during silage fermentation of
957 grass. Netherlands Journal of Agricultural Science (Netherlands).
- 958 Silva, D. J., and A. C. Queiroz. 2002. Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos).
959 3rd ed. UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.
- 960 Silva, A. V.; Pereira, O. G.; Valadares Filho, S. C.; Garcia, R.; Cecon, P. R.; Ferreira, C. L. L.
961 F. 2006. Consumo e digestibilidade dos nutrientes em bovinos recebendo dietas
962 contendo silagens de milho e sorgo, com e sem inoculante microbiano. Revista
963 Brasileira de Zootecnia, v. 35, n. 6, p. 2469-2478.
- 964 Tabacco, E., F. Righi, A. Quarantelli, and G. Borreani. 2011. Dry matter and nutritional losses
965 during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different
966 lactic acid bacteria inocula. J. Dairy Sci. 94:1409–1419.
- 967 Tilley J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of
968 forage crops. Grass Forage Sci. 18:104–111.
- 969 Van Soest P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral
970 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy
971 Sci., 74:3583–3597.
- 972 Weinberg, Z. G. Muck, R. E. Weimer P.J. 2003. The survival of silage inoculant lactic acid
973 bacteria in rumen fluid. J. Appl. Microbiol. 94:1066-1071.
- 974 Weinberg, Z. G., Chen, Y., Gamburg, M. 2004. The passage of lactic acid bacteria from silage
975 into rumen fluid, *in vitro* studies. J. dairy Sci. 87:3386-3397.

976 Weinberg, Z. G., Shatz, O., Chen, Y., Yosef, E., Nikbahat, M., Ben-Ghedalia, D., & Miron, J.
977 2007. Effect of lactic acid bacteria inoculants on *in vitro* digestibility of wheat and corn
978 silages. J. dairy Sci. 90:4754-4762.

979 Woolford, M. K. 1990. The detrimental effects of air on silage. J. Appl. Microbiol. 68:101-
980 116.

981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

1001 **Tabela 1.** Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho
 1002 reensiladas e tratadas com inoculante

Parâmetro (g kg ⁻¹ MS)	Tratamentos					P-value		
	Controle		Inoculante		EPM	I	R	I × R
	SIL	RE	SIL	RE				
MS	247.20	251.73	251.23	247.77	0.35	NS	NS	NS
Cinzas	45.17	49.55	45.30	49.15	0.08	NS	**	NS
PB	84.81	87.87	87.13	86.19	0.05	NS	NS	NS
EE	33.22	44.52	48.14	52.11	0.18	**	NS	NS
FDN	516.45	535.25	526.29	570.68	0.75	NS	*	NS
FDNcp	501.95	518.30	508.57	551.28	0.73	NS	NS	NS
FDA	277.24	283.93	258.27	292.10	0.60	NS	NS	NS
FDAcp	252.17	259.38	235.00	266.90	0.62	NS	NS	NS
Lignina	39.93	42.65	36.64	41.10	0.11	NS	NS	NS
CNF	328.67	296.59	317.94	254.40	0.91	NS	**	NS
DIVMS	614.23	595.33	663.76	604.58	0.80	*	**	NS

1003 SIL, silagem; RE, reensilagem; MS, matéria seca; PB, proteína bruta; EE, extrato etéreo;
 1004 FDN, fibra insolúvel em detergente neutro; FDNcp, fibra insolúvel em detergente neutro
 1005 corrigida pra cinzas e proteína; FDA, fibra insolúvel em detergente ácido; FDAcp, fibra
 1006 insolúvel em detergente ácido; CNF, carboidratos não fibrosos; DIVMS, digestibilidade *in*
 1007 *vitro* da matéria seca; EPM, erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito da
 1008 reensilagem; I x R, efeito da interação; * P < 0.05%; ** P < 0.01%; NS, não significativo.

1009

1010

1011 **Tabela 2.** Parâmetros de qualidade fermentativa de silagens de milho reensiladas e tratadas
1012 com inoculante

Parâmetro	Tratamentos							
	Controle		Inoculante		P-value			
	SIL	RE	SIL	RE	EPM	I	R	I x R
pH	3.87	3.98	3.94	3.82	0.04	NS	NS	NS
N-NH ₃ /NT (g kg ⁻¹)	74.67	72.04	76.58	76.33	0.17	NS	NS	NS
Ácido lático (g kg ⁻¹ MS)	65.68	49.85	61.56	40.33	0.36	NS	*	NS
Ácido acético (g kg ⁻¹ MS)	14.67	29.27	12.27	25.23	0.25	NS	*	NS
Ácido propiônico (g kg ⁻¹ MS)	0.47	1.36	1.88	1.84	0.04	NS	NS	NS
Ácido butírico (g kg ⁻¹ MS)	2.77	1.27	0	0.25	0.05	NS	NS	NS
Perda de gases (% MS)	18.11	26.07	18.84	29.17	1.79	NS	**	NS
Perda de efluentes (g ton ⁻¹ MN)	14.44	18.13	11.25	22.37	2.05	NS	*	NS
Perda total (% MS)	16.88	26.89	16.72	26.07	1.76	NS	**	NS

1013 SIL, silagem; RE, reensilagem; MS, matéria seca; NH₃, nitrogênio amoniacal; NT, nitrogênio
1014 total; MN, matéria natural; EPM, Erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito da
1015 reensilagem; I x R, efeito da interação; *P < 0.05%; **P < 0.01%; NS, não houve
1016 significância.

1017

1018

1019

1020

1021 **Tabela 3.** Estabilidade aeróbia, pH durante o teste de estabilidade e contagem de
 1022 microrganismos total no momento da abertura e após a perda de estabilidade aeróbia da
 1023 silagem de milho reensilada e tratada com inoculante

Parâmetro	Tratamentos				EPM	P-value		
	Controle		Inoculante			I	R	I x R
	SIL	RE	SIL	RE				
Estabilidade aeróbia (hr)	208.80	211.20	220.80	192	11.49	NS	NS	NS
Contagem microbiológica após a abertura do silo								
Bactéria (log ₁₀ UFC g ⁻¹)	6.67	6.63	6.75	6.64	0.21	NS	NS	NS
Leveduras (log ₁₀ UFC g ⁻¹)	3.81	3.99	2	3.67	0.22	NS	NS	NS
Fungos (log ₁₀ UFC g ⁻¹)	3.13	3.63	2.30	3.21	0.15	NS	NS	NS
Contagem microbiológica após a perda da estabilidade								
Bactéria (log ₁₀ UFC g ⁻¹)	9.44	10.09	9.51	10.03	0.18	NS	NS	NS
Leveduras (log ₁₀ UFC g ⁻¹)	9.57	10.11	9.54	9.88	0.47	NS	NS	NS
Fungos (log ₁₀ UFC g ⁻¹)	8.18	8.34	8.35	7.78	0.64	*	NS	NS

1024 SIL, silagem; RE, reensilagem; EPM, Erro padrão da média; I, efeito do inoculante; R, efeito
 1025 da reensilagem; I x R, efeito da interação; * P < 0.05%; ** P < 0.01%; NS, não houve
 1026 significância.