

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

USO DE ADITIVO MICROBIANO E DE FILME PLÁSTICO
NO CONTROLE DA FERMENTAÇÃO E DA DETERIORAÇÃO
AERÓBIA DE SILAGEM DE MILHO

Michele Keiko Miyazaki
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Maio de 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

USO DE ADITIVO MICROBIANO E DE FILME PLÁSTICO
NO CONTROLE DA FERMENTAÇÃO E DA DETERIORAÇÃO
AERÓBIA DE SILAGEM DE MILHO

Michele Keiko Miyazaki

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Co-orientador: Dr. Thiago Fernandes Bernardes

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Maior de 2008

M685u Miyazaki, Michele Keiko
Uso de aditivo microbiano e de filme plástico no controle da
fermentação e da deterioração aeróbia de silagem de milho / Michele
Keiko Miyazaki – Jaboticabal, 2008
iv, 92 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008

Orientador: Ricardo Andrade Reis

Banca examinadora: Clóves Cabreira Jobim, Ana Cláudia
Ruggieri

Bibliografia

1. Estabilidade aeróbia. 2. Inoculante microbiano. 3. perdas. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.085.52:633.15

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MICHELE KEIKO MIYAZAKI – filha de Haruhiko Miyazaki e Marta de Campos Miyazaki, nascida em 15 de fevereiro de 1981, em Araçatuba, estado de São Paulo. Em 2001 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Jaboticabal – SP, obtendo o título de Zootecnista em dezembro de 2005. Em março de 2006 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Jaboticabal – SP. Obteve o Título de Mestre em Zootecnia em 12 de Maio de 2008, pela Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – São Paulo.

*"Suba o primeiro degrau com fé.
Não é necessário ver toda a escada.
Apenas dê o primeiro passo."*

Martin Luther King Jr.

Aos meus pais Haruhiko e Marta por serem o alicerce da minha vida. Devo mais essa conquista a vocês.

Ao meu irmão Marcelo, minhas avós Clarice e Hanae, meus avós *in memoriam* Benedito e Tameharu, minhas tias queridas, tios, primos e primas amadas que estiveram sempre ao meu lado.

OFEREÇO

Ao meu noivo Gustavo Dias da Silveira pelo amor, dedicação e exemplo de força e determinação que me incentivam a buscar meus ideais.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar meu caminho.

A Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP) Jaboticabal – SP, ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do curso de Mestrado, ao Departamento de Microbiologia e ao Departamento de Tecnologia (Lab. Bioquímica do Solo) pela disponibilidade do laboratório para execução das análises.

A CAPES e CNPq, pelas bolsas de estudo.

À Empresa Lallemand pela concessão do inoculante microbiano.

Ao Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis, pela orientação, confiança e profissionalismo.

Ao Dr. Gabriel Maurício de Peruca Melo e Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia, por dividirem comigo as dificuldades e estarem sempre prontos a ajudar, pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade durante o período de convivência na Universidade. Os levarei sempre com muito carinho e admiração.

Ao Dr. Thiago Fernandes Bernardes, pela co-orientação e colaboração nesse trabalho.

Aos membros da Banca pelas sugestões e conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP, Sueli, Chelli, Alex, Rodrigo, Camila, Flávia, Luma, Carol, Ivan, Rafael e Rodrigo pela convivência harmoniosa e sempre muito agradável.

À minha família, pelo apoio, confiança e por acreditarem nos meus sonhos. E acima de tudo, pelo exemplo honestidade e perseverança.

Ao meu noivo Dr. Gustavo Dias da Silveira, pelo amor, pelo esforço, pela compreensão e por vezes ser um ótimo estagiário.

Aos grandes amigos que juntos nessa reta final se mostraram pessoas incríveis: Cláudia Demétrio, Dani Gaúcha, Marcelo Marchi, Melina Mancini e em especial a Thaiza Morceli e Dani Sarti pelo carinho e amizade que se fortaleceram em um momento de muitas dificuldades. Obrigada pelo acolhimento e pelo apoio de todos, sem vocês eu não teria conseguido.

À minha querida “amiga-irmã” Melina Cais (Bambu) que esteve ao meu lado nos momentos bons e se mostrou ainda maior que seus 1,86 nos mais difíceis. Obrigada pela força! Amo você.

Às queridas amigas, Mirela Cais (Takuara), Roberta Macedo (Pervinha), Camila Rosa (Pinta), Maísa Jacob (Gatuíra), Carla Paixão (Xarrete), Maria Carolina (Patita), Carol Prado (Pantufa), Lígia Saes (Titinha), Larissa Pereira (Alá), Mariana Sacarelli (Má) e todas amigas da República Mete Marcha pelos bons momentos de descontração.

Aos grandes amigos da graduação, Marcelo Stiaque, Aila Loise, Vinícius Assuena, Roberta Sesana, Elias Gutierrez e Antônio Roveri pelo companheirismo de tantos anos e principalmente pela amizade sincera e verdadeira.

À amiga, ex-companheira de república e fiel colaboradora, Amanda Prates Oliveira pela amizade e por sempre se mostrar disposta a ajudar no que fosse preciso.

Às amigas pós-graduandas, Marcela, Juliana carioca, Greicy Kelly e em especial à Estella pelo carinho de sempre e Anna Paula (Dequinha) pela ajuda e colaboração nas análises microbiológicas desse trabalho.

Às minhas amigas e amigos de infância que se fazem presentes de coração em todos os momentos da minha vida, em especial à Carolina Toqueton e Juliana Caldeira.

Muito Obrigada!!!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISAO DE LITERATURA	3
2.1 Silagem de milho.....	3
2.2 Fatores associados ao manejo da ensilagem	5
2.2.1 Filme plástico na vedação do silo	6
2.2.2 Inoculantes microbianos como aditivos	9
2.2.2.1 <i>Lactobacillus buchneri</i>	12
2.3 Deterioração aeróbia.....	13
3. REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO 2. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE <i>Lactobacillus buchneri</i> NO CONTROLE DA DETERIORAÇÃO AERÓBIA EM SILAGEM DE MILHO	26
1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 Ensilagem e determinação das perdas	30
2.2 Recuperação da matéria seca	30
2.3 Amostragem e análises químico-bromatológicas	31
2.4. Avaliação no pós-abertura	34
2.6. Avaliação microbiológica.....	35
2.14. Análise estatística	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
3.1 Caracterização do milho no momento da ensilagem	36

3.2	Avaliação das perdas e recuperação da matéria seca no processo fermentativo das silagens	38
3.3	Presença de leveduras e fungos nas silagens de milho tratada com <i>Lactobacillus buchneri</i>	41
3.4	Valor nutritivo das silagens de milho no momento da abertura e fase de aerobiose dos silos	43
2.6	Estabilidade aeróbia na fase de aerobiose dos silos	57
4.	CONCLUSÕES	59
5.	REFERÊNCIAS	60
CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DO FILME DE BAIXA PERMEABILIDADE AO OXIGÊNIO NA VEDAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA SILAGEM DE DOIS HÍBRIDOS DE MILHO		70
1.	INTRODUÇÃO	71
2.	MATERIAL E MÉTODOS	72
2.1.	Amostragem e análises químico-bromatológicas	75
2.2.	Avaliação microbiológica	77
2.3.	Análise dos dados	78
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
4.	CONCLUSÕES	86
5.	REFERÊNCIAS	86

USO DE ADITIVO MICROBIANO E DE FILME PLÁSTICO NO CONTROLE DA FERMENTAÇÃO E DA DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGEM DE MILHO

RESUMO - O presente trabalho teve o objetivo de avaliar técnicas, como o uso de aditivos microbianos direcionados ao controle de microrganismos aeróbios, bem como a utilização de um filme plástico de baixa permeabilidade ao oxigênio no controle da deterioração aeróbia. No primeiro estudo, o objetivo foi avaliar o efeito do *Lactobacillus buchneri* sobre a composição química, o perfil de fermentação, a presença de fungos e de leveduras e a estabilidade aeróbia da silagem de milho. No segundo, objetivou-se avaliar as perdas de matéria seca, a composição químico-bromatológicas e a presença de fungos e leveduras das silagens de milho, na região periférica de silos superfícies, quando vedada com filme de baixa permeabilidade ao oxigênio. A inoculação influenciou o perfil fermentativo, indicando que o aumento da dose aplicada na massa ensilada reduziu a recuperação da MS e aumentou as perdas por gases. A composição bromatológica das silagens de milho não foi influenciada, no entanto ocorreu maior estabilidade aeróbia das silagens tratadas. O filme de baixa permeabilidade ao oxigênio reduz a ocorrência de leveduras e de fungos quando é imposto ao silo um avanço satisfatório da massa de silagem durante o desabastecimento, o que poderia melhorar a qualidade sanitária da mesma.

Palavras-chave: composição química, estabilidade aeróbia, inoculante, lona, perdas, *Zea mays* L

USE OF MICROBIAL ADDITIVE AND PLASTICS FILM IN THE CONTROL OF FERMENTATION AND AEROBIC DETERIORATION OF CORN SILAGE

SUMMARY - The present work aimed to evaluate techniques, as additives specific for aerobic microorganisms control and plastic film with low oxygen permeability for aerobic deterioration control. In the first study, the aim was to evaluate the effect of *Lactobacillus buchneri* on the chemical composition, the fermentation profile, the presence of fungi and yeasts and aerobic stability of corn silage. In the second, it was aimed to evaluate the dry matter losses, chemical-bromatologic compound and the presence of fungi and yeasts of corn silage, in the peripheral region of surfaces silos when forbidden to film from low permeability to oxygen. The inoculation influenced the fermentation profile, indicating that the increase of the dose applied in mass ensiled reduced the recovery of MS and increased losses by gases. The corn silage chemical composition was not influenced however there was greater aerobic stability of the treated silage. The low oxygen permeability film reduces the occurrence of yeast and fungi when it is imposed on a breakthrough satisfactory silo of the mass of silage during feedout rate, which could improve the health quality of the same.

Keywords: aerobic stability, chemical composition, film cover, inoculant, losses, *Zea mays* L

Capítulo 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Com a evolução da pecuária, os sistemas de produção intensivos passaram a ser uma opção para os produtores brasileiros, e conseqüentemente a utilização de forragem de alta qualidade durante o ano todo passa a ser importante componente dos programas de alimentação. Ao longo dos últimos anos houve a intensificação das técnicas de conservação de forragem, sendo a ensilagem o processo mais preponderante no sistema produtivo.

Tradicionalmente, a forragem mais utilizada para a ensilagem é a planta de milho, cultivado com este propósito em grandes áreas ao redor do mundo. Este fato deve-se além de sua qualidade nutricional, às suas características desejáveis para ensilagem, como por exemplo: período de semeadura flexível, possibilidade de colheita para grãos ou silagem, facilidade de mecanização da cultura da semeadura até a ensilagem, alta produção de matéria seca por unidade de área, padrão adequado de fermentação no silo devido ao teor de matéria seca entre 28% a 40%, alta concentração de carboidratos solúveis e baixo poder tamponante (NUSSIO, 1991; SANTOS, 1995). No entanto, um antagonismo se insere, pois quanto mais nutritivas, isto é, quanto mais nutrientes forem preservados durante o processo fermentativo, mais susceptível à deterioração aeróbia as silagens serão (SIQUEIRA et al., 2005).

Várias causas podem estar relacionadas à instabilidade aeróbia, no entanto poucos são os trabalhos que estudam a importância dos fatores inerentes ao manejo de confecção das silagens sobre as perdas após a abertura (RUPPEL et al., 1995;

HOLMES & MUCK, 1999; MUCK & HOLMES, 2001; BERNARDES, 2006). Um dos pré-requisitos essenciais para uma eficiente preservação da forragem ensilada é diminuir a presença de O₂ no silo após seu fechamento (WOOLFORD, 1990) e assim minimizar a deterioração aeróbia, processo essencialmente microbiano no qual o crescimento dos microrganismos é condicionado por condições físicas e químicas (PAHLOW et al., 2003). Desse modo, a lona plástica assume um papel importante durante a etapa de vedação dos silos e a sua principal função é manter a anaerobiose (HONIG, 1991).

Recentemente, pesquisas têm buscado novas alternativas com o objetivo de minimizar as perdas decorrentes da ensilagem, otimizar o processo fermentativo, reduzir a deterioração aeróbia e preservar o valor nutritivo das silagens produzidas. Neste sentido, a utilização de inoculantes microbianos (HARRISON & BLAUWIEKEL, 1994), é uma técnica extensamente difundida em países desenvolvidos e vem despertando grande interesse dos produtores brasileiros. Entretanto, os resultados obtidos com sua utilização são contraditórios, já que as melhoras no perfil fermentativo das silagens nem sempre são acompanhadas de melhoras no valor nutritivo e/ou ganhos no desempenho animal, sendo que o inverso também é verdadeiro (MAGALHÃES, 2002).

Esses fatores justificam as investigações dos efeitos dos inoculantes em grande variedade de plantas forrageiras (milho, sorgo, capim, alfafa entre outras) para a confecção da silagem, seja sobre o aspecto fermentativo ou nutricional. Assim sendo, a avaliação de aditivos adequados ao processo de ensilagem de milho é importante, pois permite aumentar a eficiência da conservação, garantindo a preservação da qualidade da forragem (REIS et al., 2001).

O objetivo dos experimentos subseqüentes, foi estudar os efeitos do inoculante microbiano (*Lactobacillus buchneri*), bem como a utilização do filme plástico de baixa permeabilidade ao oxigênio sobre a composição química, microbiológica, estabilidade no pós-abertura e fermentação da silagem de milho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Silagem de milho

A pecuária brasileira está evoluindo no sentido de adotar sistemas mais eficientes, com o uso de animais de maior potencial genético, que demandam dietas balanceadas, à base de concentrados e volumosos de alto valor nutritivo. PIMENTEL et al. (1998) relataram que, para produção de silagem, há preferencialmente a necessidade de uma espécie forrageira que apresente produção elevada de massa por unidade de área e que seja um alimento de alta qualidade para os animais.

Neste sentido, McDONALD et al. (1991) consideram a planta de milho ideal para ensilagem, uma vez que, no momento adequado de colheita, contém quantidade relativamente alta de matéria seca, baixa capacidade tampão e níveis adequados de carboidratos solúveis para fermentação. ALMEIDA FILHO (1996), afirma que a silagem, corretamente preparada, pode ter 80% do valor alimentício que existia no material verde original, enquanto que NUSSIO (1992), trabalhando com oito cultivares de milho, verificou que a análise da planta antes da ensilagem não diferiu significativamente do material ensilado. Com isso, no Brasil e no mundo, a planta de milho é amplamente utilizada para ensilagem por proporcionar forragens com alto valor nutricional.

Segundo NUSSIO et al. (2001), essa vantagem deve-se ao fato de sua composição bromatológica preencher os requisitos para confecção de uma silagem ideal, como: teor de matéria seca entre 30% a 35%, teores de carboidratos solúveis acima de 3% na matéria verde e baixo poder tampão, características essas que propiciam fermentação láctica, a qual é considerada ideal no processo de conservação das silagens.

O teor de matéria seca está relacionado com o estabelecimento de condições apropriadas para fermentação láctica e redução das perdas. No entanto, as plantas de milho colhidas com teores elevados de matéria seca (40 a 45%) apresentam maiores níveis de perdas, maior dificuldade de compactação, aquecimento da massa ensilada e menor taxa de fermentação, resultando em silagens de qualidade inferior, principalmente nos silos de superfície (FERREIRA, 2001). Enquanto a colheita de plantas com baixo conteúdo de matéria seca, propicia perdas durante a fermentação em decorrência de fermentação secundária, bem como a produção de efluentes.

Contudo, SIQUEIRA et al. (2005), afirmam que as silagens de milho podem ser consideradas alimentos nobres, pois são dotadas de alto valor nutritivo e elevado custo de MS. Com isso, considera-se que os cuidados com essas silagens após a abertura dos silos devem ser extremamente criteriosos devido a maior instabilidade aeróbia das silagens de milho que ocorre em virtude da maior concentração de substratos potencialmente oxidados por microrganismos oportunistas.

2.2 Fatores associados ao manejo da ensilagem

O consumo de forragens conservadas é o resultado de interações complexas que envolvem as características das plantas antes do processamento, os fatores inerentes ao processo de conservação, as alterações no valor nutritivo durante o fornecimento aos animais, do processamento físico da forragem conservada e das características dos animais que serão alimentados com o volumoso (REIS & SILVA, 2006).

Os autores enfatizam o entendimento dos mecanismos que propiciem a manutenção do valor nutritivo da forragem, minimizando as perdas de nutrientes. HERDERSON (1993), afirma que tais perdas no processo de ensilagem podem ocorrer durante o emurchecimento, fermentação e descarregamento da forragem, podendo variar de 10 a 50% da matéria seca ensilada. Segundo McDONALD et al. (1991), as perdas de matéria seca podem chegar a mais de 15%, quando as condições de fermentação não são as desejadas e o armazenamento não é satisfatório.

Para produção de uma silagem de alta qualidade é necessário manter as condições anaeróbias, restringindo a respiração da planta durante a colheita, e retardando o crescimento e o metabolismo oxidativo dos microrganismos (OHYAMA et al., 1975 e BARRY et al., 1980). Falhas em tais condições podem diminuir a recuperação de nutrientes, resultando na produção de alimentos volumosos de baixa qualidade, com reduções no seu consumo e conseqüente baixo desempenho animal (CLEALE, et al., 1990).

Após a abertura de um silo, observa-se progressiva deterioração aeróbia, causada pela reativação da proliferação da microbiota que havia permanecido inativa

sob as condições anaeróbicas anteriores, caracterizada pelo aumento da temperatura e do pH, devido à oxidação dos produtos finais da fermentação. Tudo isso resulta em perdas do valor nutritivo, restringindo, ou até rejeitando o consumo de matéria seca, causando distúrbios digestivos e, em casos extremos, ocasionando a morte do animal pela presença de toxinas (HATTORI et al., 1994).

Com isso, a utilização de microrganismos produtores de ácidos orgânicos considerados fracos pode reduzir o pH da massa ensilada e agir sobre o metabolismo de leveduras e fungos filamentosos (item 2.2.2) e favorecer o controle da deterioração aeróbia (MOON, 1983; McDONALD, 1991).

Como o processo de deterioração aeróbia é essencialmente microbiano e o crescimento dos microrganismos é condicionado por condições químicas e físicas (PAHLOW et al., 2003), um dos pré-requisitos essenciais é minimizar a presença de O₂ no silo, após seu fechamento. Desse modo, o filme plástico assume um papel importante durante a etapa de vedação e a sua principal função é manter a anaerobiose (HONIG, 1991).

2.2.1 Filme plástico na vedação do silo

Silos horizontais são geralmente atrativos em razão da maior economia no armazenamento de forragens sob a forma de silagem, pois outros tipos como o bag, só podem trazer retorno financeiro quando a fazenda produzir mais de 200 toneladas de silagem, devido principalmente aos altos custos dos equipamentos para a confecção (ROTZ et al., 2003). Entretanto, se a vedação não for adequada, o oxigênio penetra na silagem, ocorrendo à multiplicação de microrganismos aeróbios e conseqüente

deterioração aeróbia (BORREANI et al., 2007). Dentre as silagens, a de milho é particularmente mais susceptível a degradação aeróbia quando exposta ao ambiente (ASHBELL & WEINBERG, 1992; KUNG Jr et al., 1998). O problema se torna ainda maior em silos horizontais que permitem grande superfície de exposição e de trocas gasosas com o ambiente, durante o enchimento e também após a vedação (DICKERSON, 1992), o que pode resultar em maiores níveis de perdas.

A contribuição mais expressiva da etapa de vedação do silo está em evitar-se a penetração de ar do ambiente externo para o interior. Contudo, há que se considerar que é comum o filme de polietileno apresentar permeabilidade ao oxigênio, em torno de $4000 \text{ cm}^3 \text{ de O}_2/\text{m}^2$ durante 24 horas a temperatura de 23°C (espessura da lona de $45 \mu\text{m}$) a qual tende a aumentar notavelmente com a elevação da temperatura ambiental, passando para $12000 \text{ cm}^3 \text{ de O}_2/\text{m}^2$ por 24 horas a 50°C (SIQUEIRA et al., 2005). Isto significa que durante o período do verão, quando as silagens são mais propensas à deterioração aeróbia, este fato se torna mais crítico pelo aumento da permeabilidade nas lonas. O problema é particularmente evidente nas áreas periféricas do silo, onde se verifica movimento gasoso devido à diferença de temperatura e pressão. No estudo de ASHBELL & KASHANCI (1987) as perdas na superfície do silo foram de 76% nas faces laterais, próximas às paredes e menores ao centro (16%).

As tipologias dos filmes plásticos apresentam cores e espessuras diversas (0,025 mm a 0,2 mm). Os de espessura mais fina são utilizados na vedação de silos tipo “big bale” (silos-fardos) e os mais espessos (0,1 a 0,2 mm) na cobertura de silos horizontais (BERNARDES, 2006). Segundo KUZIN & SAVOIE (2001), as perdas nas áreas periféricas do silo são influenciadas pela espessura da lona que deve ser proporcional

ao tempo de estocagem da silagem. Além desta propriedade física, a permeabilidade ao O₂ pode ser alterada pela coloração da lona e pela temperatura ambiental. As flutuações da temperatura (evidente entre o dia e a noite) determinam diferenças de pressão entre o gás no interior do silo e aquele da atmosfera circundante, sendo que tais diferenças causam fluxo de gás, do exterior para o interior e vice-versa, quanto maior for a permeabilidade da lona (SAVOIE, 1988; TABACCO & BORREANI, 2002).

DAPONTE (1992) propôs no início dos anos noventa o uso de uma nova estrutura nos filmes plásticos utilizados na vedação das silagens, no entanto, as empresas não tinham interesse comercial por se tratar de um material de alto custo. Contudo, em decorrência das mudanças na atividade pecuária, demandando cada vez mais eficiência nos processos de produção e conservação de alimentos, têm-se desenvolvido estratégias de vedação envolvendo o uso de um filme que reduz a permeabilidade ao oxigênio como uma alternativa ao polietileno padrão (BORREANI et al., 2007).

Entre as moléculas plásticas utilizáveis na vedação de silos, a poliamida é um polímero interessante pela sua menor permeabilidade ao O₂, cerca de 90 vezes inferior ao polietileno. Segundo a American Society for Testing and Materials Standards (AMST D3985-81), a permeabilidade do polietileno ao O₂, à temperatura de 23°C e umidade relativa de 85%, é de 178.000 cm³/m²/24h/bar/μm de espessura, enquanto a poliamida apresenta 2000 cm³/m²/24h/bar/μm de espessura, cujos valores, aumentam notavelmente quando a temperatura é elevada a 50°C (534.00 e 10.000, respectivamente). Isto significa que, durante o verão, os riscos de deterioração aeróbia

de silagens se elevam principalmente nos países de clima tropical, pelo aumento da permeabilidade dos filmes plásticos (BERNARDES, 2006).

Segundo o mesmo autor, devido ao elevado custo da poliamida e pelas dificuldades técnicas de se confeccionar um filme somente com esse polímero, uma empresa Italiana tem produzido experimentalmente uma lona com diversos estratos, em que um deles é constituído de poliamida.

2.2.2 Inoculantes microbianos como aditivo

Os resultados obtidos com o uso de vários aditivos existentes no mercado, quanto à fermentação e preservação de silagens durante a fase de exposição ao ar, além de respostas no desempenho animal, vêm sendo extensivamente estudados ao longo da sua produção e utilização em todo mundo (HARRINSON et al., 1994). Estes trabalhos têm abrangido uma variedade de espécies forrageiras e aditivos, porém não têm sido amplos o suficiente para esclarecer as variações encontradas dentro de várias espécies, quando utilizados diferentes aditivos.

Os principais objetivos do uso de aditivos no processo da ensilagem são: melhorar a qualidade da fermentação no silo, reduzir perdas de nutrientes e aumentar a ingestão e o desempenho animal (WILKINSON, 1983). O ideal seria que o aditivo tivesse comprovada capacidade de reduzir as perdas de matéria seca, aumentar a qualidade higiênica, limitar fermentações secundárias, aumentar a estabilidade aeróbia (WARDYNSKI et al., 1993), além de incrementar o valor nutritivo da silagem e, finalmente, oferecer ao produtor ganhos financeiros consideráveis ao investimento inicial dessa tecnologia (HERDERSON, 1993).

De uma forma geral, os inoculantes microbianos abrangem a classe de aditivos com mais rápido desenvolvimento e adoção em todo mundo, devido principalmente à facilidade de manipulação, ausência de toxicidade para os mamíferos e grande disponibilidade no mercado. O princípio básico de atuação destes produtos é o incremento na população de bactérias homofermentativas, e em alguns casos das heterofermentativas, capazes de competir com os microrganismos epíficos existente na forragem, de maneira a aumentar a produção de ácido lático e de outros ácidos orgânicos envolvidos na preservação das silagens, além de diminuir a proteólise e a desaminação da proteína, com o uso mais adequado dos carboidratos solúveis e conseqüentemente, maior retenção de nutrientes na silagem. (ROTZ & MUCK, 1994; KUNG Jr et al., 2003; PAHLOW et al., 2003).

A eficiência de utilização dos inoculantes depende do conteúdo de matéria seca da forragem, da quantidade de carboidratos solúveis disponíveis e da anaerobiose no silo. Quando o carregamento do silo é demorado favorece o desenvolvimento de microrganismos produtores de ácidos fracos (*Bacillus*, *Coliformes*), importantes no abaixamento inicial do pH da massa ensilada, em prejuízo das bactérias produtoras de ácido lático. O uso do inoculante microbiano contendo bactérias homoláticas, promove teoricamente aumento na taxa de fermentação (maior relação ácido lático/acético), diminuindo a proteólise enzimática, advinda da rápida queda do pH dentro do silo e da desaminação da proteína da forragem, com uso mais eficiente dos carboidratos solúveis e, em conseqüência, maior retenção de nutrientes na silagem (HERDERSON, 1993).

Porém, segundo MUCK (1996), o uso de inoculantes microbianos poderá também apresentar efeito negativo na conservação da silagem após a abertura do silo se os teores de carboidratos solúveis residuais forem elevados, criando-se condições favoráveis para atuação de microrganismos aeróbicos indesejáveis, como ocorre com as leveduras e fungos filamentosos. Assim, o uso de inoculantes microbianos pode influenciar leve ou intensamente a ação dos microrganismos indesejáveis, dependendo das alterações finais do pH, do conteúdo de açúcares residuais e dos ácidos láctico e acético. O sucesso no uso do inoculante microbiano está vinculado a três fatores: população natural de bactérias lácticas; conteúdo de açúcares da forragem; e cepas de bactérias presentes no inoculante. A bactéria que constitui o inoculante deve ser eficiente na competição com os microrganismos epíficos naturais da planta, devendo ainda ser efetiva no processo fermentativo, favorecendo o maior desempenho do animal (MUCK, 1993). BOLSEN et al. (1995), em sumário de 26 estudos, afirmaram que, em 19 experimentos com silagens de milho e 10 experimentos com silagem de sorgo, a adição de inoculantes bacterianos diminuiu as perdas de matéria seca, melhorando também a qualidade das silagens.

Atualmente, o principal enfoque na indústria de inoculantes é à busca de produtos a base de bactérias homofermentativas. Contudo, uma linhagem de bactérias heterofermentativa (*Lactobacillus buchneri*), tem-se mostrado promissora em aumentar a estabilidade aeróbia das silagens devido à produção de ácido acético que pode inibir as leveduras (WEINBERG & MUCK, 1996).

2.2.2.1 *Lactobacillus buchneri*

WEINBERG & MUCK (1996) propuseram a utilização do *Lactobacillus buchneri* visando atender os novos conceitos em relação aos inoculantes citados acima. A partir de então vários estudos vêm sendo realizados em vários países como os de DRIEHUIS et al. (1999), KUNG Jr. & RANJIT (2001), OUDE ELFERINK et al. (2001), PEDROSO et al. (2002), WEINBERG et al. (2002), SCHMIDT et al. (2004), SIQUEIRA (2005), entre outros.

Bactérias heteroláticas fermentam glicose produzindo ácido lático e etanol, já a frutose é fermentada a ácido lático, acético e manitol. Porém, o *L. buchneri* não possui a enzima acetaldéido desidrogenase responsável pela redução de acetaldéido a etanol. Portanto, esse microrganismo não produz etanol, conseqüentemente ocorre aumento na concentração de ácido acético como produto final de sua fermentação (McDONALD et al., 1991). O acetato produzido é considerado um ácido pouco eficiente quanto à capacidade em reduzir o pH da silagem (MOON, 1983), no entanto, apresenta função inibidora sobre espécies de microrganismos deterioradores (leveduras e fungos) que crescem quando a silagem é exposta ao ambiente (DRIEHUIS et al., 1999; OUDE ELFERINK et al. 2001)

Estudos demonstraram a capacidade do *L. buchneri* de degradar em condições anaeróbias, ácido lático em ácido acético e 1,2-propanodiol, em quantidades equimolares, de forma que em silagens de milho inoculadas com estas bactérias ocorre acúmulo de ácido acético às expensas do ácido lático (OUDE ELFERINK et al., 2001). Segundo SIQUEIRA et. al. (2005), é importante lembrar que a redução de ácido lático

representa diminuição do substrato potencialmente fermentescível por determinadas cepas de leveduras.

Confirmando estes fatos, RANJIT & KUNG Jr. (2000), em experimento onde avaliaram inoculantes contendo estas bactérias na ensilagem do milho, observaram aumento na produção de ácido acético, que resultou em aumento significativo na estabilidade aeróbia e redução na população de leveduras das silagens tratadas. A inoculação com o *L. buchneri* reduziu a população de leveduras na abertura dos silos de 6,05 (controle) para 2,02 log ufc/g de silagem, devido a maior concentração de ácido acético 3,6 (inoculada) contra 1,82% nas silagens não inoculadas. Durante a exposição aeróbia, os autores observaram que as silagens tratadas com *L. buchneri* tiveram menores elevações de pH, reduzidas perdas de carboidratos solúveis e de ácido láctico, maior tempo para elevação da temperatura e conseqüentemente maior relação com a estabilidade aeróbia da silagem.

Em outro estudo, TAYLOR & KUNG Jr. (2002) testaram níveis de aplicação de *L. buchneri* em concentrações na ordem de 10^5 a 10^6 unidades formadoras de colônia (ufc)/g de forragem, constataram que níveis iguais ou superiores a 5×10^5 ufc/g foram eficientes no controle do desenvolvimento de leveduras e no aumento da estabilidade aeróbia, de silagens de grãos úmidos de milho, observando no entanto, que houve aumento na concentração de etanol (de 0,43 para 0,91% em média).

2.3 Deterioração aeróbia

O manejo de abertura do silo e de remoção da silagem para fornecimento aos animais promove a aeração do ambiente, que era estritamente anaeróbio. Sob essa

condição, microrganismos que permaneceram dormentes na ausência de oxigênio multiplicam-se, resultando na deterioração da silagem. Na prática, essa deterioração é geralmente manifestada pelo aumento na temperatura e pelo aparecimento de fungos (CASTRO et al., 2006). Contudo, a taxa de deterioração é muito variável entre os tipos de forragens ensiladas (McDONALD et al., 1991).

As silagens que apresentam maior susceptibilidade à deterioração aeróbia são aquelas ricas em carboidratos solúveis e amido, como as de milho, ou aquelas em que a fermentação foi restringida pelo uso de aditivos e/ou pelo emurchecimento excessivo da forragem antes da ensilagem. Manter o ambiente em anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento, bem como a estabilidade aeróbia durante a fase de fornecimento no cocho, são fatores importantes para a preservação do valor nutritivo da forragem ensilada (GIMENES et al., 2006).

No entanto, a deterioração da silagem quando exposta ao ar é inevitável e devida, principalmente, à ação de fungos, leveduras e algumas espécies de bactérias que metabolizam o ácido láctico, o qual é degradado em dióxido de carbono e água, resultando em excessiva produção de calor e perdas de nutrientes. Além disso, a degradação desse ácido se torna benéfica para a elevação do pH da silagem, permitindo o crescimento de microrganismos oportunistas como bactérias e mofo que consomem carboidratos solúveis e proteína levando a perdas substanciais de matéria seca e conseqüente redução no valor nutritivo do volumoso (NUSSIO et al., 2002; WOOLFORD, 1990; McDONALD et al., 1991; TAYLOR et al., 2002; PAHLOW et al. 2003).

A deterioração aeróbia das silagens é indesejável em razão da grande perda de nutrientes, associada ao baixo consumo voluntário do material e até mesmo à rejeição completa da silagem pelos animais (McDONALD et al., 1991). Em estudos realizados na Universidade de Kansas, EUA, BOLSEN et al. (2002) demonstraram os impactos negativos que a presença de silagem deteriorada tem sobre a ingestão e digestibilidade em bovinos. Utilizando como fonte da dieta 90% de silagem de milho e 10% de concentrado (base na MS) os tratamentos foram distribuídos da seguinte forma: A) 100% de silagem normal, B) 75% normal e 25% deteriorada, C) 50% normal e 50% deteriorada e D) 25% normal e 75% deteriorada. Nota-se que quando houve maior participação de silagem deteriorada na dieta (tratamento D) ocorreu redução da ingestão em 17%, da digestibilidade da matéria orgânica em 10%, da digestibilidade da proteína bruta em 15% e a da digestibilidade da FDN em 16%, quando comparado ao tratamento A.

Os resultados indicaram que a presença de silagem que sofreu degradação por microrganismos aeróbios (fungos e leveduras) causou alterações na qualidade da dieta, podendo reduzir o ganho de peso ou a produção de leite. Segundo os autores a menor ingestão das silagens que sofreram deterioração pode ser resultado de sua baixa aceitabilidade e digestibilidade, e conseqüentemente de reduzida taxa de passagem pelo rúmen, além do desbalanceamento no suprimento de nitrogênio e de energia no ambiente ruminal para a efetiva síntese de proteína microbiana. Em síntese, de acordo com VAN SOEST (1994), a diminuição na concentração de carboidratos solúveis e, conseqüentemente, na disponibilidade de energia para o crescimento de microrganismos no rúmen é uma hipótese associada ao baixo consumo de silagens.

O fornecimento de silagem deteriorada pode resultar em redução da ingestão e performance do animal (HOFFMAN & OCKER, 1997). Segundo RUIZ (1992), alguns fungos como *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, podem elaborar metabólitos secundários (micotoxinas) que, caso ingeridas podem provocar diminuição no consumo de alimentos pelo animal, levando a uma menor produção e gerando vários efeitos tóxicos aos animais, podendo evoluir à morte. Os cuidados necessitam ser ainda maiores no período do verão devido à ação da temperatura ambiente sobre a estabilidade do material. Maior intensidade de deterioração acontece em temperatura ambiente de 30°C, que favorece a proliferação de fungos, maior produção de CO₂ e maior aumento de pH (ASHBELL et al., 2002).

Diante do exposto, o alto custo do processo de ensilagem necessita que seja fundamental o efetivo gerenciamento para uma produção bem sucedida. Isto porque, além da administração da produção de forragem, o uso de máquinas e equipamentos próprios ou adaptados, informações técnicas como época de corte, tamanho de partícula, duração da ensilagem, vedação do silo e manejo do silo após sua abertura são fatores que, se não forem implementados corretamente, podem causar sérias perdas qualitativas na silagem e econômicas na produção de bovinos alimentados com ela (FERREIRA, 1990).

3. REFERÊNCIAS

ALMEIDA FILHO, S.L. **Avaliação dos cultivares de milho (*Zea mays* L.) para silagem**. Viçosa: UFV, 1996. 53p.

ASHBELL, G.; KASHANCHI, Y. In-silo losses from wheat ensiled in bunker silos in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.40, p. 95-103, 1987.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G. Top silage losses in horizontal silos. **Can. J. Eng.** 34:171–175, 1992

ASHBELL, G. et al. The effect of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silage. **Journal Industrial Microbiology & Biotechnology**, New York, v. 28, p. 261-263, 2002.

BARRY, T.N.; DI MENNA, M.E.; WEBB, P.R.; PARLE, J.N. Some observations on aerobic deterioration in untreated silages and in silages made with formaldehyde-containing additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.21, n.2, p.133-146, 1980.

BERNARDES, T. F. **Controle da deterioração aeróbia de silagens**. 2006. 103f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

BOLSEN, K.K.; ASHBELL, G.; WILKINSON, J.M. Silage additives. In: WALLACE, J.; CHESSON, A. (Ed.) **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. New York: VCH Weinheim. p.33-54, 1995.

BOLSEN, K.K.; WHITLOCK, L.A.; URIARTE-ARCHUNDIA, M.E. Effect of surface spoilage on the nutritive value of maize silages diets. In: THE INTERNATIONAL SILAGE

CONFERENCE, 13th, 2002, Auchincruive. **Proceeding...** Auchincruive, 2002, p.75-77, 2002.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.10, p.4701-4706, 2007.

CASTRO, F.G.F.; NUSSIO, L.G.; HADDAD, C.F.; CAMPOS, F.P.; COELHO, R.M.; MARI, L.J.; TOLEDO, P.A. Características de fermentação e composição químico-bromatológica de silagens de capim-tifton 85 confeccionadas com cinco teores de material seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.7-20, 2006.

CLEALE, R.M.; FIRKINS, J.L.; VAN DER BEEK, F.; CLARK, J.H.; JASTER, E.H.; McCOY, G.C.; KLUSMEYER, T.H. Effect of inoculation of whole plant corn forage with *Pediococcus acidilactivi* and *Lactobacillus xylosus* on preservation of silage and heifer growth. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.3, p.711-718, 1990.

DAPONTE, T. Coextruded films in silage. *Plasticulture*, v.90, p35-44, 1992

DICKERSON, J. T. **Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos.** Dissertation - Doctor of Philosophy, Kansas State University, Manhattan, 1992, 138p.

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

FERREIRA, J.J. Aspectos vegetativos da planta de milho e momento de colheita para silagem. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.14, n.164, p.47-49, 1990.

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

GIMENES, A.L.G.; MIZUBITI, I.Y.; MOREIRA, F.B.; PEREIRA, E.S.; RIBEIRO, E.L.A.; MORI, R.M. Composição química e estabilidade aeróbia em silagem de milho preparadas com inoculante bacteriano e/ou enzimático. **Acta Sci. Anim. Sci.** Maringá, v.28, n.2, p.153-158, 2006.

HARRISON, J. H.; BLAUWIEKEL, R.; STOKES, M. R. Fermentation and utilization of grass silage. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.10, p. 3209-3235, 1994.

HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, p.35-56, 1993.

HATTORI, I.; KUMAI, S.; FUKUMI, R.; BAYORBOR, T. The effect of some additives on aerobic deterioration of corn silage. **Anim. Sci. Technol.**, v.65, n.6, p. 547-550, 1994.

HOFFMAN, P.C.; OCKER, S.M. Quantification of milk yield losses associated with feeding aerobically unstable high moisture corn. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 80, supl. 1, p. 234, 1997.

HOLMES, B. J.; MUCK, R. E. **Factors affecting bunker silos densities**. Madison: University of Wisconsin, 1999. 7p.

HONIG, H. Reducing losses during storage and unloading of silage. In: PAHLOW, G.; HONIG, H. (Eds). **Forage conservation towards 2000**. 1. ed. Braunschweig: European Grassland Federayion, p. 116-128, 1991.

KUNG Jr, L.; SHEPERD, A.C.; SMAGALA, A.M.; ENDRES, K.M.; BESSETT, C.A.; RANJIT, N.K.; GLANCEY, J.L. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, 81:1322–1330, 1998

KUNG Jr, L.; RANJIT, N.K. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1149-1155, 2001.

KUNG Jr, L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Eds). **Silage Science and Technology**. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p. 305-360.

KUZIN, V.; SAVOIE, P. Modeling air infiltration in bunker silos to optimize the cover. In: ANNUAL INTERNATIONAL MEETING SPONSORED. Sacramento: ASAE. 2001, 10p.

MAGALHÃES, V.J.A. **Efeito da inoculação microbiana da silagem pré-secada de alfafa sobre a fermentação no silo, digestibilidade e desempenho produtivo de vacas leiteiras**. 106f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2002.

McDONALD, P.; HERDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcomb Publications, 1991. 340p.

MOON, N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeast by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixture. **Journal of Applied Bacteriology**, v.55, p.453-460, 1983.

MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. In: SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL, 1993, New York. **Proceedings...** New York: NRAES. n.67, p.106-116, 1993.

MUCK, R.E. Inoculation of silage and its effects on silage quality. In: INFORMATIONAL CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Madison: USDFRC. p.43-51, 1996.

MUCK, R. E.; HOLMES, B. J. Density and losses in pressed bag silos. In: **Annual International Meeting Sponsored**. Sacramento: ASAE. 2001, 20p.

NUSSIO, L.G. Cultura do milho para produção de silagem de alto valor alimentício. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 4, 1991, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1991, p. 59-160.

NUSSIO, L.G. Produção de silagem de alta qualidade. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 19, 1992, Porto Alegre, RS. **Conferências...** Porto Alegre: SSA/SCT/ABMS/EMATER-RS/EMBRAPA/CNPMS, 1992. p.155-175

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; DIAS, F.N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. In: SIMPÓSIO SOBRE UTILIZAÇÃO E PRODUÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO, p. 127-145, 2001.

NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; NUSSIO, C.M.B. Ensilagem de Capins Tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Recife/PE, **Anais...** p. 60-95, 2002.

OHYAMA, Y.; MASAKI, S.; HARA, S. Factor influencing aerobic deterioration of silages of italian ryegrass and changes in chemical composition after opening silos. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.26, n.8, p.1137-1147, 1975.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J.C.; SPOELSTRA, S.F.; FABER, F.; DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, p.125-132, 2001.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Microbiology of ensiling In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.). **Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p.31-94.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; LOURDES, D.R.S.; IGARASI, M.S.; MARLI, L.J.; COELHO, R.M.; RIBEIRO, J.L.; ZOPOLLATTO, M.; HORII, J. Bacterial inoculants and chemical additives to improve fermentation in sugar cane (*Saccharum officinarum*) silage. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 13, 2002, Auchincruive. **Proceeding...** Auchincruive: SAC, p.68-69, 2002.

PIMENTEL, J.J.O.; SILVA, J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Efeito da suplementação protéica no valor nutritivo de silagens de milho e sorgo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5 p.1042-1049, 1998.

RANJIT, N.K; KUNG JR. JR, L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantanarum*, or a chemical preservation on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.526-535, 2000.

REIS, R.A.; JOBIM, C.C. Perfil da fração de carboidratos da planta e adequação de aditivos no processo de ensilagem. In: WORKSHOP SOBRE MILHO PAR SILAGEM, 2., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ,p.27-52, 2001.

REIS, R.A.; SILVA, S.C. Consumo de forragens. In: Berchielli, T.T et al (eds). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006, 583p.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. Changes in forage quality during harvest and storage. In: Fahey Jr., G.C. **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison. American Society of Agronomy. p. 828-868, 1994.

ROTZ, C. A.; FORD, S. A.; BUCKMASTER, D. R. Silages in farming systems. In: D. R. Buxton, R. E. Muck, J. H. Harrison (eds). **Silage Science and Technology**. American Society of Agronomy, p. 505-546, 2003.

RUIZ, R.L. **Microbiologia Zootécnica**. São Paulo: Roca, 1992. 289p.

RUPPEL, K. A.; PITT, R. E.; CHASE, L. E.; GALTON, D. M. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 141-1453,1995.

SANTOS, J.A. Silagem: Qualidade e economia dependem de critérios da semeadura ao cocho. Balde branco, São Paulo, v.31, p. 23-27, 1995.

SAVOIE, P. Optimization of plastic covers for stack silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v.41, p.65-73, 1988.

SCHIMDT, P.; NUSSIO, L.G.; SANTOS, M.C.; RIBEIRO, J.L.; ZOPOLLATTO, M.; PAZIANI, S.F.; MARI, L.J.; LOURDES, D.R.S.; JUNQUEIRA, M.C. Comportamento ingestivo de bovinos alimentados com silagem de cana-de-açúcar inoculadas com doses de *Lactobacillus buchneri* NCIMB 40788. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. CD-ROM.

SIQUEIRA, G.R; BERNARDES, T.F.; REIS, R.A. Instabilidade Aeróbia de Silagens: Efeitos e Possibilidades de Prevenção. In: REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A. (Eds). **Volúmosos na Produção de Ruminantes**. 2 ed. Jaboticabal: Funep, p.25-60, 2005.

TABACCO, E.; BORREANI, G. Come contrastare il deterioramento aerobico negli insilati di mais. **L'Informatore Agrário**, v.15, p.105-111, 2002.

TAYLOR, C.C. *et al.* The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 85, p. 1793-1800, 2002.

VAN SOEST, P. **Nutritional ecology of the ruminant** 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

TAYLOR, C.C.; KUNG Jr, L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.1526-1532, 2002.

WARDYNSKI, F.A.; RUST, S.R.; YOKOYAMA, M.T. Effect of microbial inoculation of high-moisture corn on fermentation characteristics, aerobic stability, and cattle performance. **Journal of Animal Science**, v.71, n.8, p. 2246-2252, 1993.

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

WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; AZRIELI, A.; SZAKACS, G.; FILYA, I. Ensiling whole cop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantanarum*

and *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.28, p.7-11, 2002.

WILKINSON, J.M. Valor alimenticio de las forageras ensiladas de clima tropical y temperado. *Revista Mundial de Zootecnia*. 46:35-40, 1983

WOOLFORD, M. K. The detrimental effect of air on silage. **Journal Appl. Bacteriol.** 68:101–116, 1990.

Capítulo 2 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE *Lactobacillus buchneri* NO CONTROLE DA DETERIORAÇÃO AERÓBIA EM SILAGEM DE MILHO

RESUMO - O uso de aditivos microbianos tem sido objeto de interesse para maximização da estabilidade aeróbia. Esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do *Lactobacillus buchneri* (LB) sobre a composição química e fermentação e estabilidade aeróbia da silagem de milho. Os tratamentos foram: 1) Sem inoculante; 2) LB 1×10^4 ; 3) LB 5×10^4 ; 4) LB 1×10^5 ; 5) LB 5×10^5 ; 6) LB 1×10^6 UFC/g forragem ensilada. Durante a fermentação determinou-se a recuperação da matéria seca e as perdas por gases. O valor nutritivo da forragem e as alterações nas populações de fungos e leveduras foram avaliadas antes da ensilagem e após a abertura dos silos. Os atributos que apresentaram esfericidade da matriz de covariância foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema de análise de parcelas subdivididas. Os que não apresentaram esfericidade da matriz foram analisados como modelo misto. Na fase fermentativa, as silagens tratadas apresentaram baixas RMS, especialmente no tratamento 5×10^5 (93,92%) e elevadas perdas por gases nas silagens com as maiores doses do inoculante. O valor nutritivo no momento da abertura e durante a fase de aerobiose, em geral, não foi afetado pelos tratamentos. A estabilidade aeróbia foi maior nas silagens com as duas maiores concentrações de *L. buchneri*. As alterações obtidas com o uso de inoculantes favoreceram a estabilidade aeróbia das silagens e foram mínimas no perfil fermentativo e valor nutritivo das silagens de milho.

Palavras-chave: composição química, estabilidade aeróbia, inoculante microbiano.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de se atender as exigências nutricionais dos animais torna a ensilagem do milho uma alternativa amplamente utilizada pelos pecuaristas no período de escassez de forragem, no entanto, verificam-se grandes perdas de nutrientes durante a exposição das silagens ao ar. Assim sendo, a utilização de práticas de manejo e de aditivos tem propiciado redução nas perdas de matéria seca e de valor nutritivo das silagens durante o período de exposição ao ar. Com o objetivo de minimizar as perdas decorrentes da ensilagem, otimizar o processo fermentativo, reduzir a deterioração aeróbia e preservar o valor nutritivo, tem sido pesquisado o uso de inoculantes microbianos na ensilagem (HARRISON & BLAUWIEKEL, 1994).

Nesse sentido, vários aditivos de silagem foram utilizados nas duas últimas décadas com o objetivo de proporcionar condições favoráveis à máxima recuperação da energia deste alimento, com subsequente ganho no desempenho animal. Entre esses aditivos, os inoculantes microbianos representam importante ferramenta, pois, segundo HENDERSON (1993), contribuem para a redução da proteólise enzimática, advinda da rápida queda do pH dentro do silo, o que favorece a produção de grandes quantidades de ácido láctico, e representam, por isso, a possibilidade de maior recuperação de matéria seca.

Inoculantes contendo bactéria heterofermentativa como o *Lactobacillus buchneri*, que produz ácido acético em detrimento do ácido láctico, têm se mostrado mais eficazes em reduzir a população de leveduras e aumentar a estabilidade aeróbia de silagens de milho e de gramíneas de clima temperado (RANJIT & KUNG Jr., 2000; TAYLOR et al., 2002). Durante a exposição aeróbia, os autores observaram que as silagens tratadas

com *L. buchneri* tiveram menores elevações de pH, reduzidas perdas de carboidratos solúveis e de ácido lático, maior tempo para elevação da temperatura e conseqüentemente maior relação com a estabilidade aeróbia da silagem.

O objetivo do experimento foi estudar os efeitos do inoculante microbiano sobre a composição química, microbiológica, fermentação e estabilidade aeróbia da silagem de milho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na área experimental da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – UNESP, Campus de Jaboticabal/SP, situada a 21º 15' 22" de latitude sul e 48º 18' 58" de longitude oeste de Greenwich e a uma latitude de 595 metros.

O clima é classificado como Cwa – mesotérmico de inverno seco, pelo sistema internacional de Köppen. Sendo assim, apresenta temperatura média anual máxima de 22,3°C e mínima de 15,2°C no mês mais frio. A precipitação pluvial média é de aproximadamente 1400 mm, com 85% das chuvas concentradas nos meses de outubro a março.

O híbrido de milho utilizado foi o AG 1051, comumente utilizado no processo de ensilagem. A semeadura foi realizada mecanicamente e ocorreu no dia 15 de dezembro de 2005. Entre os tratamentos culturais, realizou-se uma adubação de plantio de 350 Kg/ha da fórmula 8-20-20 (N-P-K). No dia 05 de abril de 2006 o híbrido atingiu 30 a 35% matéria seca (MS), momento em que a consistência dos grãos variou entre o estágio

pastoso e o farináceo duro, o que corresponde à visualização da linha de leite entre 1/3 e 2/3 (NUSSIO e MANZANO, 1999).

A forragem foi colhida utilizando-se a colhedora forrageira JF Z10. Após o corte e processamento do milho no campo, a forragem foi transportada até as dependências do setor de Forragicultura da Unesp – Jaboticabal, onde sobre uma lona plástica os inoculantes foram aplicados por meio de borrifador manual utilizando água não clorada e homogeneizados manualmente.

Utilizou-se como tratamento diferentes diluições do inoculante bacteriano conforme recomendações do fabricante mais o grupo controle com quatro repetições, sendo os mesmos descritos abaixo:

- 1) Sem inoculante (controle);
- 2) *L. buchneri* 1×10^4 (UFC/g forragem) ;
- 3) *L. buchneri* 5×10^4 (UFC/g forragem);
- 4) *L. buchneri* 1×10^5 (UFC/g forragem);
- 5) *L. buchneri* 5×10^5 (UFC/g forragem);
- 6) *L. buchneri* 1×10^6 (UFC/g forragem).

O microrganismo *Lactobacillus buchneri* (Cepa NCIMB 40788) é encontrado no inoculante comercial LalsilCana[®], apresentado na forma de pó e embalado em sachê contendo 100 gramas de inoculante recomendado para inocular 50 toneladas de material forrageiro (cana-de-açúcar).

2.1 Ensilagem e determinação das perdas

Como silos experimentais foram utilizados 24 baldes plásticos com capacidade de 7L, os quais foram fechados com tampa plástica e lacrados com fita adesiva. Para o escape de gases foi adaptada à tampa válvulas do tipo “Bunsen”. A ensilagem foi realizada com auxílio de bastões de ferro, objetivando alcançar a densidade de 650kg de forragem/m³, determinou-se o volume de cada silo experimental, pesando-se a quantidade de forragem necessária para obter a densidade desejada. Após a compactação da forragem os silos foram vedados com fita adesiva, pesados e armazenados.

Durante o período de fermentação os baldes foram pesados para determinação das perdas por gases. As pesagens foram efetuadas nos dias 1, 2, 3, 7, 14, 21, 56 e 90 dias após a ensilagem. A determinação da perda por gases foi calculada pela equação descrita por MARI (2003):

$$PG = (PSI - PSF) / MSI * 100$$

sendo:

PG: produção de gases (% da MS)

PSI: peso do silo no momento da ensilagem (Kg)

PSF: peso do silo no momento da abertura (Kg)

MSI: matéria seca ensilada (quantidade de forragem (Kg) * % matéria seca)

2.2 Recuperação da matéria seca

Para determinação da recuperação da matéria seca digestível verdadeira, utilizou-se a equação descrita abaixo, segundo JOBIM et al. (2007):

$$\text{RMS} = (\text{M Fab} \times \text{MSab}) / (\text{MFfe} \times \text{MSfe}) * 100$$

Onde:

RMS = índice de recuperação de matéria seca;

M Fab= massa de forragem na abertura;

MSab= teor de MS na abertura;

MFfe = massa de forragem no fechamento;

Msfe = teor de MS da forragem no fechamento.

2.3 Amostragem e análises químico-bromatológicas

Antes da ensilagem, após a aplicação do inoculante nas referidas diluições, a forragem foi amostrada duas vezes em cada tratamento. Uma das amostras destinou-se à quantificação do pH segundo SILVA & QUEIROZ (2002), enquanto que a segunda amostra foi levada para estufa de ventilação forçada a 55 °C durante 72 horas para eliminação de sua umidade e análises subseqüentes.

Na abertura dos silos, após homogeneização da silagem, retirou-se quatro amostras de cada. Uma das amostras foi usada para determinação do pH segundo os procedimentos descrito por SILVA & QUEIROZ (2002), com base na diluição de nove gramas de silagem fresca em 60 mL de água destilada e leitura do pH após 30 minutos de repouso. A segunda amostra, após elaboração do extrato aquoso segundo KUNG Jr. (1996), destinou-se às determinações do nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH₃), conforme PRESTON (1986) e ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico) determinados segundo a metodologia descrita por WILSON (1971) em cromatógrafo líquido-gasoso. A diluição utilizada foi de 0,25 mL de amostra mais

0,05mL do ácido fórmico. O modelo do equipamento utilizado foi o CG 270, o gás de arraste e os comburentes foram nitrogênio, hidrogênio e oxigênio, respectivamente, nas vazões de 30, 30 e 300 mL/min. A temperatura do injetor, do detector e da coluna foram de 200, 220 e 190°C, respectivamente.

A terceira amostra foi armazenada sob condições de refrigeração por um período de 4 a 5 horas e destinou-se às avaliações microbiológicas, enquanto que a quarta amostra foi pesada e levada para estufa de ventilação forçada a 55 °C durante 72 horas.

As amostras que foram levadas para a estufa, colhidas antes da ensilagem e após a abertura dos silos, foram novamente pesadas, moídas em moinho de faca dotado de peneira com orifícios de 5 mm para obtenção de uma amostra grosseiramente moída. A moagem final, realizada após a moagem preliminar, teve por finalidade obter um pó bastante fino com o tamanho de partículas menor que 1 mm e posteriormente acondicionadas em potes de plástico para as avaliações nutricionais subseqüentes.

Determinou-se os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), nitrogênio ligado a FDN (N-FDN) e extrato etéreo (EE) segundo os métodos descritos por SILVA & QUEIROZ (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) foram avaliados pelo micro-método, seguindo-se a metodologia descrita originalmente por WEINER et al. (1990) com algumas alterações.

Na determinação do teor de celulose utilizou-se o ácido sulfúrico a 72% (VAN SOEST, 1994), enquanto os teores de lignina foram calculados por diferença entre FDA e celulose e os teores de hemicelulose foram calculados por diferença entre FDN e

FDA. O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculado de acordo com a fórmula descrita por SNIFFEN et al. (1992). Avaliou-se a digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria seca (DIVVMS) por meio da determinação do conteúdo de FDN do resíduo da digestão, obtido na fase de fermentação, segundo a descrição de VAN SOEST (1994).

Foram calculados nas silagens os valores de carboidratos não fibrosos (CNF) de acordo com a fórmula descrita por SNIFFEN et al (1992):

$$\text{CNF} = 100 - (\text{FDN (PB)} + \text{PB} + \text{EE} + \text{MM}) \text{ onde:}$$

CNF= carboidratos não fibrosos;

FDN (PB)= fibra em detergente neutro livre de nitrogênio;

PB= proteína bruta;

EE= extrato etéreo;

MM= matéria mineral.

Calculou-se também os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) de acordo com a fórmula, segundo modelo descrito pelo NRC (2001):

$$\text{NDT} = \text{PB} * e^{-0,12 * \text{NIDA}} + 0,98 * (100 - \text{FDN (PB)} - \text{EE} - \text{PB} - \text{cinzas}) + 2,25 * (\text{EE} - 1) + 0,75 * (\text{FDN (PB)} - L) * (1 - [(L / \text{FDN(PB)})^{0,667}]) - 7 \text{ onde:}$$

NDT= nutrientes digestíveis totais;

PB= proteína bruta;

FDN (PB) = FDN livre de nitrogênio;

EE= extrato etéreo;

L= lignina;

NIDA= NIDA * N/ total.

Todas as análises descritas anteriormente foram realizadas nas amostras coletadas na abertura, e no 3º, 5º e 7º dias de exposição ao ar.

2.4 Avaliação no pós-abertura

Após a abertura dos silos uma parte da amostra foi colocada em baldes plásticos e estes foram pesados e armazenados em câmara climática a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, para avaliação da estabilidade aeróbia. A temperatura do ambiente foi controlada pelo termostato do aparelho “refrigerador” e também por intermédio de termômetros suspensos no ar. Além disso, promoveu-se a manutenção da umidade relativa (UR) do ar em 65%, com auxílio de termo higrômetro e mediante a colocação de recipientes, contendo água, na câmara climática.

As temperaturas das silagens no pós-abertura foram obtidas por meio de um termômetro digital inserido dentro da massa de silagem contida nos baldes uma vez no momento da abertura e duas vezes ao dia (8:00 e 18:30h) durante os 7 dias de aerobiose. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo gasto em horas, para a massa de forragem elevar em 2°C a temperatura acima daquela do ambiente (KUNG Jr. et al.,2003).

2.5 Avaliação microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia, pertencente ao Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal - SP. Foram efetuadas após a abertura dos silos e no sétimo dias de aerobiose.

Pesou-se previamente 25 g (matéria verde) de cada amostra às quais foram adicionados 225 mL de solução de água peptonada bacteriológica (Biolife). Após agitação foram retirados 10 mL do extrato para as diluições posteriores em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina fisiológica estéril (8,5 g de NaCl/litro de água destilada). A partir dos extratos diluídos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}), foram realizadas as sementeiras (0,1 mL por placa) em placas de Petri descartáveis contendo o meio Ágar Batata + Dextrose acidificado (Biolife) a um pH=4,5 o suficiente para inibir bactérias e incubadas durante 72h em aerobiose (25 a 28°C). Após este procedimento foram realizadas as contagens de leveduras e fungos com auxílio de lupa. Segundo a metodologia proposta por SPECK (1976).

Na contagem de fungos foi utilizado o mesmo meio de cultura e temperatura, sendo a incubação realizada por 120 horas, pois necessitam de mais tempo para se desenvolverem. A diferenciação entre leveduras e fungos foi realizada por meio da estrutura física das colônias, uma vez que as leveduras são microrganismos que apresentam colônias formadas por organismos unicelulares, enquanto que os fungos são multicelulares filamentosos (McDONALD et al. 1991).

2.7 Análise estatística

Os atributos que apresentaram esfericidade da matriz de covariância foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema de análise de parcelas subdivididas, considerando nas parcelas os tratamentos e nas subparcelas os períodos de avaliação. Os que não apresentaram esfericidade da matriz foram analisados como modelo misto utilizando o pacote estatístico SAS e matriz de covariância autoregressiva.

A recuperação da matéria seca (RMS) foi analisada em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Em todos os casos, quando o Teste F foi significativo às médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do milho no momento da ensilagem

Na Tabela 1, encontram-se os dados referentes aos teores médios e seus respectivos desvios-padrão da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL) e pH determinados nas plantas de milho utilizadas na preparação das silagens, de acordo com os tratamentos estabelecidos antes da ensilagem. Os teores de MS foram acima dos 25% preconizados por McDONALD et al. (1991) como condição necessária para que as perdas de efluentes dentro do silo sejam minimizadas e, conseqüentemente, ocorra à manutenção dos nutrientes do material ensilado.

Todos os atributos analisados tiveram valores inferiores ao encontrados por SILVA et al. (2005) em um estudo sobre composição bromatológica de silagens de

milho tratadas com inoculante microbiano *Lactobacillus buchneri*. Utilizando o híbrido AG 1051, antes da ensilagem, os autores apresentaram valores de 60,72% de FDN, 28,89% de FDA, 4,20% de LIG, 29,83% de HEMIC e 25,43% de CEL. Somente no caso da PB, o valor de 7,68% foi ligeiramente menor que o encontrado nesse estudo.

Uma possível causa para tais diferenças, relaciona-se as condições edafoclimáticas e de manejo da cultura envolvidos em cada um dos estudos. SILVA et al. (2005), conduziram o experimento na cidade de Viçosa, Minas Gerais. Foram aplicados 300 Kg/ha de 8-28-16 (N-P-K) como adubação de plantio efetuando-se ainda duas adubações de cobertura, aos 25 e 45 dias após a semeadura, aplicando-se, respectivamente, 150 kg/ha da mistura 20-0-20 e 100 kg de uréia sendo que o presente estudo foi realizado na cidade de Jaboticabal, São Paulo com apenas um adubação realizada no plantio de 350 Kg/ha de 8-20-20 (N-P-K).

Tabela 1. Composição químico-bromatológica do híbrido de milho AG 1051 em função dos tratamentos estabelecidos antes da ensilagem.

Atributos ¹	Tratamentos ²					
	Controle	LB 1x10 ⁴	LB 5x10 ⁴	LB 1x10 ⁵	LB 5x10 ⁵	LB 1x10 ⁶
MS (%MS)	35,8±0,27	35,0±0,46	33,6±0,23	33,8±0,78	35,0±0,57	34,3±0,25
FDN (%MS)	50,3±1,59	49,9±1,05	51,0±0,94	52,2±1,70	50,7±0,26	51,1±0,48
FDA (%MS)	23,6±0,40	23,2±0,86	24,6±0,86	25,8±1,08	22,3±1,24	24,6±0,34
PB (%MS)	8,8±0,80	8,9±0,72	8,3±0,19	7,8±0,36	7,8±0,25	7,7±0,24
LIG (%MS)	2,8±0,76	2,0±0,77	2,7±1,19	3,1±0,14	2,9±0,80	2,7±0,67
HEMIC (%MS)	25,9±1,13	26,7±0,72	26,7±1,19	27,3±0,46	25,6±1,37	26,6±0,18
CEL (%MS)	21,6±0,76	21,2±1,29	21,8±1,79	22,7±1,19	19,4±1,09	21,8±0,90
pH	4,4±0,15	4,5±0,13	4,4±0,15	4,4±0,05	4,3±0,08	4,3±0,06

¹ MS: matéria seca total (%); FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; PB: proteína bruta; LIG.: lignina; HEMIC: hemicelulose; CEL: celulose; pH: potencial hidrogeniônico.

² Controle: sem adição de inoculante; LB 1x10⁴:controle + L. buchneri 1x10⁴; LB 5x10⁴:controle + L. buchneri 5x10⁴; LB 1x10⁵:controle + L. buchneri 1x10⁵; LB 5x10⁵:controle + L. buchneri 5x10⁵; LB 1x10⁶:controle + L. buchneri 1x10⁶.

KLEINSCHMIT et al. (2006) avaliando os efeitos do *Lactobacillus buchneri* 40788 e *Pediococcus pentosaceus* R1094 na fermentação de silagens de milho, encontraram

maiores valores de MS (37,2%), PB (10,5%), FDA (29,5%), pH (5,73) e valores semelhantes de FDN (50,3%) na planta de milho após o tratamento e antes da ensilagem. Similar aos encontrados por RANJIT et al. (2002) em estudos anteriores no qual se avaliou a composição química do milho tratado com várias doses de *L. buchneri* combinado com enzimas e inoculante comercial também combinado com enzimas antes da ensilagem.

3.2 Avaliação da recuperação da matéria seca e perdas por gases no processo fermentativo das silagens.

Segundo JOBIM & GONÇALVES (2003) faz-se necessário determinar a eficiência de aproveitamento da silagem, considerando a quantidade de forragem disponível no campo em relação à forragem consumida pelos animais, enfocando assim todas as perdas ocorridas durante o processo de ensilagem e utilização das silagens. De maneira mais restrita e pontual, a recuperação da matéria seca (RMS) representa a quantidade de silagem, considerando a quantidade de forragem produzida em relação à forragem ensilada, ambas consideradas na matéria seca (SIQUEIRA, 2005). Enquanto que as perdas por gases estão associadas ao perfil de fermentação ocorrido na silagem (IGARASI, 2002).

Na Figura 1 podem ser vistos os valores de recuperação da matéria seca (RMS) na fermentação das silagens de milho tratadas com inoculante microbiano. Em relação aos valores encontrados, pode-se observar diferença significativa ($P < 0,05$) principalmente nos tratamentos com maiores doses de *L. buchneri*. Indicando que o aumento da dose aplicada na massa ensilada reduziu a recuperação da MS (Figura 1).

RANJIT & KUNG Jr. (2000), discutem que a recuperação de matéria seca pode ser menor em silagens tratadas com bactérias heteroláticas, contudo, a melhora na estabilidade aeróbia e no desempenho de animais, poderia compensar essas perdas potenciais durante a fermentação.

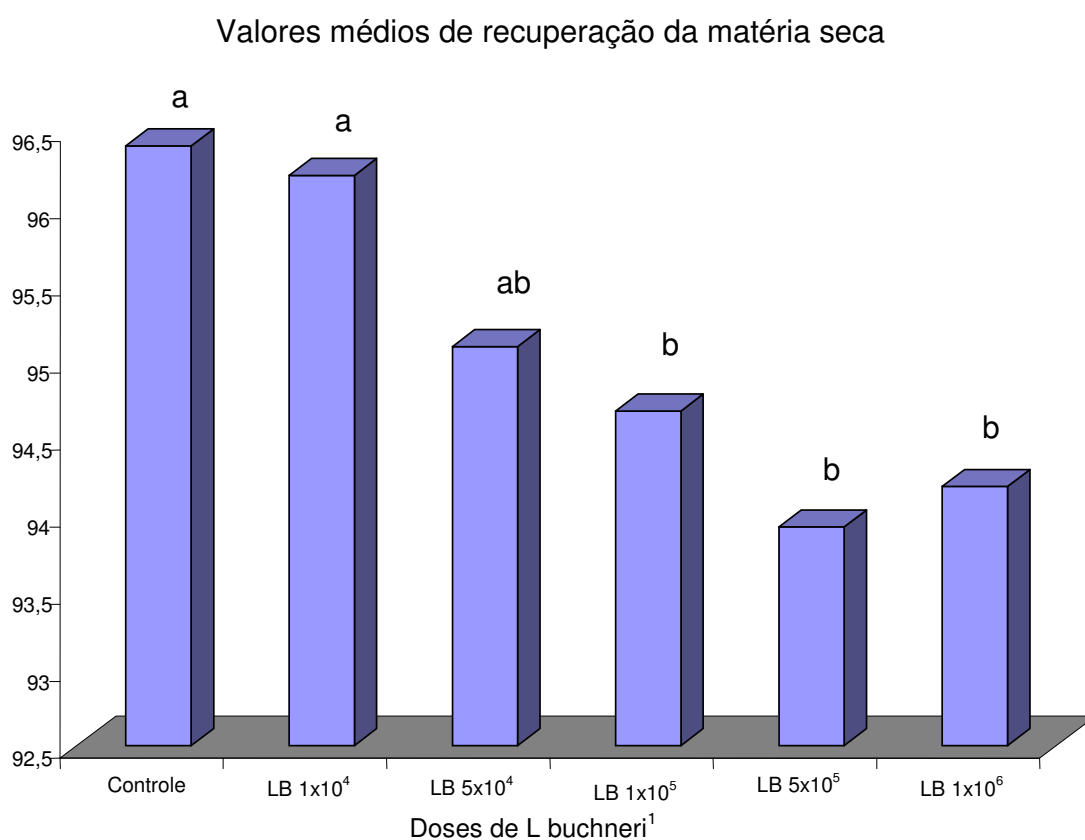


Figura 1. Recuperação da matéria seca (RMS) das silagens do milho AG 1051 tratadas com *L. buchneri* expressa em porcentagem da matéria seca ensilada em função tratamentos estabelecidos.

¹ Controle: sem adição de inculante; LB 1x10⁴; LB 5x10⁴; LB 1x10⁵; LB 5x10⁵; LB 1x10⁶ (UFC/g forragem). Letras distintas nas linhas indicam valores estatisticamente diferentes (P<0,05).

BERNARDES (2006), em um estudo sobre silagens de milho e sorgo granífero inoculadas com *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus plantarum*, o autor observou menor recuperação da MS nas silagens de milho tratada com *L. buchneri* (93,2%) quando comparado ao valor (95,6%) encontrado na silagem de milho controle. Da mesma forma, FILYA (2003), avaliando silagens de milho e de sorgo com *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus buchneri*, encontrou menor RMS onde houve inoculação com *L. buchneri*, resultado não verificado por RANJIT et al. (2002).

Na Tabela 2, observa-se maiores perdas por gases observadas nas silagens 5×10^5 e 1×10^6 (UFC/g forragem) após 90 dias de fermentação indica que o inoculante atuou sobre o processo fermentativo. Segundo McDONALD et al. (1991), a fermentação heterolática promove maiores perdas de MS pela produção de gases (CO_2 e H_2O), o que foi observado neste estudo nas silagens de milho tratadas com *L. buchneri*.

Tabela 2. Perdas por gases (PG) expressas em porcentagem da matéria seca ensilada, em função das doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* na silagem do milho AG 1051 durante a fase de fermentação.

Dias de fermentação	Tratamentos ¹					
	Controle	LB 1×10^4	LB 5×10^4	LB 1×10^5	LB 5×10^5	LB 1×10^6
1	1,34 Ba	1,10 Ca	1,63 Ca	1,37 Ca	1,08 Ca	1,34 Da
2	1,89 Ba	1,50 BCa	2,37 BCa	2,08 Ca	2,57 Ca	2,02 Da
3	2,13 Ba	1,73 BCa	2,67 BCa	2,43 Ca	3,87 Ca	2,32 Da
7	2,66 Ba	2,22 BCa	3,34 Ba	2,90 Ca	3,37 Ca	2,89 Da
14	3,41 Aba	2,60 BCa	4,08 Ba	3,31 Ca	4,69 Ca	3,55 Da
21	4,17 Aa	3,14 Ba	4,89 Ba	3,87 Ca	4,85 Ca	4,39 CDa
56	8,00 Aa	5,23 Bb	9,78 Ba	6,65 Bab	10,81 Bb	8,40 Ba
90	8,70 Aa	8,06 Ab	9,01 Aa	9,69 Ab	12,69 Ac	12,96 Ac

¹ Controle: sem adição de inoculante; LB 1×10^4 :controle + *L. buchneri* 1×10^4 ; LB 5×10^4 :controle + *L. buchneri* 5×10^4 ; LB 1×10^5 :controle + *L. buchneri* 1×10^5 ; LB 5×10^5 :controle + *L. buchneri* 5×10^5 ; LB 1×10^6 :controle + *L. buchneri* 1×10^6 .

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem ($P > 0,05$) pelo teste Tukey

Segundo SIQUEIRA (2005), a produção de gases durante o processo fermentativo em função da transformação das proteínas e carboidratos pelos microrganismos que geram vários produtos como ácidos orgânicos, etanol, água, ATP e CO₂. OUDE ELFERINK et al. (2002), afirma que a produção de CO₂ na fermentação ocorre pelas bactérias heterofermentativas que possuem a enzima carboxilase necessária para retirar as moléculas de CO₂ do ácido pirúvico conforme citado por BUTLER & BAILEY (1973).

3.3 Presença de leveduras e fungos nas silagens de milho tratada com *Lactobacillus buchneri*

A deterioração aeróbia da silagem está associada principalmente, com o desenvolvimento de fungos e leveduras. Segundo MUCK et al. (1991) e RUIZ & MUNARI (1992) o processo inicia-se com leveduras, que transformam os açúcares em álcool. Esses microrganismos apresentam alta resistência às variações do pH e sobrevivem em meio anaeróbio. No caso do *Lactobacillus buchneri* além da produção de ácido acético constata-se a síntese de 1,2-propanodiol, que também é um composto, com efeito inibitório sobre o crescimento de leveduras (RANJIT & KUNG Jr., 2000).

Pode-se observar na Tabela 3 que o número de leveduras não diminuiu com sete dias de aerobiose após a abertura (Dia 0), no entanto, em ambos os períodos a contagem de leveduras foi menor para as silagens de milho tratadas com o *L. buchneri* (5×10^5 e 1×10^6 UFC/g). DRIEHUIS et al. (1999), relataram que os números de leveduras diminuíram em silagens de milho tratadas com *Lactobacillus buchneri* com o aumento do tempo de armazenamento.

Da mesma forma, RANJIT & KUNG Jr. (2000), encontraram reduções na contagem de leveduras ($2,01 \log_{10}$ UFC/g) em silagens de milho inoculadas com *Lactobacillus buchneri* 1×10^6 (UFC/g) quando comparadas às silagens de milho não tratada ($6,05 \log_{10}$ UFC/g), como resultado da maior concentração de ácido acético 3,6 (inoculada) vs 1,82% nas silagens não inoculadas. Os mesmos autores encontraram menores valores de fungos nas silagens de milho tratadas com *Lactobacillus buchneri* 1×10^5 , 1×10^6 (UFC/g) quando comparadas às silagens não tratadas (controle) com 4,08, 3,05 e 4,30 (\log_{10} UFC/g), respectivamente.

Neste estudo não se observou no caso dos fungos, diferença significativa ($P > 0,05$) dos tratamentos no momento da abertura. O efeito surgiu no 7º dia de aerobiose nas silagens tratadas com as maiores doses do inoculante (Tabela 3).

Uma explicação para o fato de se encontrar menores valores de leveduras e fungos nas silagens tratadas com *Lactobacillus buchneri*, relaciona-se a ação do acetato sobre o metabolismo de leveduras e fungos filamentosos (MOON, 1983). Segundo DAVIDSON (1997), este ácido em pH inferior ao seu pK_a (4,73) permanece na forma não dissociada, onde a membrana dos microrganismos se torna permeável a ele, ocorrendo a entrada do ácido na célula via transporte passivo. Dentro da célula, o ácido é dissociado ($RCOO^- + H^+$) devido ao pH ser próximo de 7,0, liberando íons H^+ , o que reduz o pH intracelular. Para manter uma acidez constante, o microrganismo deve eliminar os íons H^+ , perdendo energia neste processo, retardando o seu crescimento e podendo chegar à morte da célula (BERNARDES, 2006).

Tabela 3. Presença de leveduras e de fungos nas silagens de milho tratada com doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* (LB) no momento da abertura (Dia 0) e após sete dias de aerobiose (Dia 7).

Tratamentos	Dias de exposição ao ar							
	0		7		0		7	
	Leveduras ¹		Leveduras ¹		Fungos ¹		Fungos ¹	
Controle	4,58	A b	7,86	A a	3,39	A b	6,36	A a
LB 1x10 ⁴	3,96	AB b	7,52	A a	3,86	A b	5,95	A a
LB 5x10 ⁴	2,82	CD b	7,66	A a	4,06	A b	6,64	A a
LB 1x10 ⁵	3,46	BC b	7,77	A a	3,79	A b	6,53	A a
LB 5x10 ⁵	2,56	D b	6,66	B a	3,68	A b	5,51	AB a
LB 1x10 ⁶	2,69	D b	6,69	B a	4,08	A a	4,20	B a
CV (%)	7,17		7,17		12,99		12,99	

¹log₁₀ UFC/g silagem

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem (P>0,05) pelo teste Tukey; CV:coeficiente de variação.

3.4 Valor nutritivo das silagens de milho no momento da abertura e fase de aerobiose dos silos

Analisando-se o efeito do inoculante, observa-se que o teor de matéria seca da silagem foi influenciado apenas no 7º dia de abertura dos silos (Tabela 4), registrando-se, em geral, menores valores nas silagens tratadas. RANJIT & KUNG Jr (2000), relataram pequenas variações nos teores de matéria seca em silagens de milho tratadas com inoculantes microbianos, enquanto que VELHO et al. (2006), não verificaram diferenças significativas (P>0,05) no teor de matéria seca em silagens de milho em relação ao efeito do tempo de exposição ao ar.

Os valores de pH das silagens em relação aos tratamentos não diferiram entre si (P>0,05) no momento da abertura (Dia 0) e no 3º dia de exposição aeróbia. O efeito do inoculante só ocorreu após o 5º dia de aerobiose nas silagens controle e 1x10⁴ UFC/g forragem (Tabela 4). O aumento do pH com o prolongamento dos dias de exposição ao ar após o 3º dia pode ter ocorrido, possivelmente pela ação de microrganismos

aeróbios que degradaram os ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, os quais foram usados como fonte de energia para os microrganismos (WOOLFORD, 1990).

A inclusão de bactérias heterofermentativas na ensilagem tem propiciado em silagens de milho e alfafa valores de pH mais elevados do que aquelas não inoculadas (DRIEHUIS et al., 1999 e KUNG Jr. et al., 2003). Da mesma forma, RANJIT & KUNG Jr. (2000) em um estudo sobre os efeitos do *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus plantarum* em silagens de milho, observaram após 100 dias de ensilagem, maiores valores de pH nas silagens tratadas quando comparadas às silagens não tratadas (controle).

A partir dos resultados observados, pode-se afirmar que a presença de *L. buchneri* não promoveu resistência na degradação de ácidos orgânicos durante a aeração das silagens, pois os produtos da fermentação produzidos por essa bactéria são eficientes no controle de fungos (DRIEHUIS et al., 1999) e menos eficientes no controle de bactérias aeróbias, principalmente microrganismos deterioradores em silagens de capins tropicais (BERNARDES et al, 2003). Entretanto, segundo BERNARDES et al. (2007), há relatos na literatura de que o *L. buchneri* produz um composto denominado buchnericin LB, que tem efeito bacteriostático, principalmente sobre os microrganismos *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus* (YILDIRIM et al., 2002).

Tabela 4. Valores de matéria seca (MS), pH e nitrogênio amoniacal em relação ao N total nas silagens do milho AG 1051, inoculadas com doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* (LB) em função dos dias de exposição aeróbia.

Tratamentos	Dias de exposição ao ar								Média	
	0	3		5		7				
Matéria seca (MS)										
Controle	32,49	A b	35,40	A a	35,22	A a	34,77	A a	34,47	
LB 1x10 ⁴	33,12	A a	34,75	A a	34,40	A a	33,16	AB a	33,86	
LB 5x10 ⁴	32,74	A a	33,86	A a	33,60	A a	33,29	AB a	33,37	
LB 1x10 ⁵	31,61	A b	33,71	A ab	33,87	A a	32,04	BC ab	32,81	
LB 5x10 ⁵	33,63	A a	34,99	A a	34,68	A a	34,86	A a	34,54	
LB 1x10 ⁶	32,81	A a	34,69	A a	34,68	A a	29,56	C b	32,93	
CV (%)	3,46									
Média	32,73		34,57		34,41		32,94			
pH										
Controle	3,81	A c	3,84	A c	4,25	B b	6,68	B a	4,63	
LB 1x10 ⁴	3,84	A c	3,84	A c	4,78	B b	6,89	AB a	5,38	
LB 5x10 ⁴	3,79	A c	3,96	A c	6,32	A b	7,27	A a	5,69	
LB 1x10 ⁵	3,81	A c	4,10	A c	6,35	A b	7,12	A a	5,67	
LB 5x10 ⁵	3,81	A c	4,10	A c	6,25	A b	6,95	A a	5,67	
LB 1x10 ⁶	3,84	A c	4,24	A c	6,44	A b	7,05	A a	5,87	
CV (%)										
Média	3,82		4,01		5,73		6,99			
N-NH₃/N_{Total}										
Controle	7,17	A a	5,3	B ab	4,79	C b	4,08	C b	5,62	
LB 1x10 ⁴	6,79	A a	5,83	AB ab	5,97	AB b	4,77	BC b	5,51	
LB 5x10 ⁴	6,54	A a	5,52	AB a	5,1	AB a	5,97	AB a	5,57	
LB 1x10 ⁵	7,2	A a	7,16	A b	5,06	BC b	4,58	BC b	5,92	
LB 5x10 ⁵	7,96	A a	7,95	A ab	6,34	AB b	5,49	AB b	6,37	
LB 1x10 ⁶	7,09	A a	7,19	A a	7,2	A a	7,04	A a	6,73	
CV (%)										
Média	7,13		6,49		5,74		5,32			

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem (P>0,05) pelo teste Tukey; CV:coeficiente de variação.

Na Tabela 4 podem ser observados os valores de nitrogênio amoniacal das silagens controle e inoculadas, cujas médias são inferiores a 10% do nitrogênio total, indicando que não ocorreu quebra excessiva da proteína no prolongamento da exposição aeróbia. Não se observou diferença significativa (P>0,05) entre as silagens no momento da abertura (tempo 0), no entanto, após o 3º dia de exposição aeróbia nota-se que a silagem controle apresentou diminuição nos teores de nitrogênio amoniacal em comparação às tratadas.

Os resultados obtidos foram semelhantes aos relatados por GUIM et al. (2002), que também não encontraram diferenças entre silagens de capim elefante com ou sem inoculantes bacterianos (com 6 dias de exposição ao ar). A diferença foi encontrada pelos autores após 6 dias de aerobiose com maior teor de N-amoniaco na silagem com inoculante e esta diferença tendeu a persistir com oito dias de exposição.

Os teores de ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico) das silagens de milho no momento da abertura (Dia 0) em função dos tratamentos estabelecidos estão apresentados na Tabela 5. Observa-se diferença significativa ($P < 0,05$) nos teores de acetato das silagens de milho controle (3,27 %MS) em comparação com as silagens tratadas com as duas maiores doses do inoculante (3,82 e 3,75 %MS)

Segundo NUSSIO (2001), dentre as características da planta, a porcentagem de matéria seca, o poder tampão e a concentração de carboidratos solúveis no momento da colheita são fatores que definem a intensidade de fermentação, a concentração e as proporções entre ácidos orgânicos (lático, acético, butírico, propiônico) na forragem ensilada. Em silagens de milho há redução na concentração de ácidos orgânicos e acidez titulável quando a porcentagem de matéria seca das silagens aumenta (WARD, 2000). Segundo o mesmo autor, os teores de ácido acético, propiônico e butírico ficam em torno de 3,19 a 2,59 (%MS), 0,30 a 0,20 (%MS) e 0,02 a 0,04 (%MS), respectivamente, para silagens de milho com porcentagem de matéria seca de 30 a 34%. Neste sentido, os valores dos ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico) encontrados neste estudo, encontram-se dentro da faixa indicada correspondente ao teor de matéria seca apresentado no momento da abertura dos silos.

Os teores de ácido acético observados foram semelhantes aos 3,6 (%MS) encontrados por RANJIT & KUNG Jr. (2000) em silagens de milho tratadas com *Lactobacillus buchneri* (1×10^6 UFC/g forragem) após 100 dias de ensilagem. Neste mesmo estudo, os autores afirmam que o odor característico do ácido acético pode ser notado nas silagens tratadas com o *L. buchneri* e estas elevadas concentrações de acetato resultou em melhorias substanciais na estabilidade aeróbia dessas silagens. FILYA (2003), afirma que a inoculação utilizando o *Lactobacillus buchneri*, eleva os níveis de ácido acético da silagem e conseqüentemente, possui efeito inibitório sobre o metabolismo de leveduras e fungos filamentosos (RANJIT & KUNG Jr., 2000).

Em relação aos teores de ácido propiônico, as silagens de milho não apresentaram efeitos ($P > 0,05$) nos tratamentos (Tabela 5). Os únicos microrganismos responsáveis pela formação de ácido propiônico presentes nas silagens são os clostrídios e as espécies de *Propionibacterium* (McDONALD et al., 1991). Estas bactérias produzem o ácido propiônico pela fermentação do ácido láctico e sua atividade não resulta em prejuízo para a qualidade da silagem.

No caso do ácido butírico, os valores são considerados baixos e característicos de uma silagem bem conservada. Altos teores deste ácido refletem a extensão da atividade clostridiana sobre a forragem ensilada e está relacionado a maiores valores finais de pH nas silagens (FISHER & BURNS, 1987). Frequentemente, elevados conteúdos de ácido butírico são positivamente correlacionados à redução da aceitabilidade e do consumo da forragem.

Tabela 5. Teores dos ácidos orgânicos das silagens de milho inoculadas com doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* (LB) no momento da abertura dos silos (Dia 0).

Tratamentos	Dia 0					
	Ácido acético		Ácido propiônico		Ácido butírico	
Controle	3,27	B	0,13	A	0,10	A
LB 1x10 ⁴	3,66	AB	0,15	A	0,09	A
LB 5x10 ⁴	3,60	AB	0,15	A	0,07	A
LB 1x10 ⁵	3,72	AB	0,10	A	0,05	A
LB 5x10 ⁵	3,82	A	0,11	A	0,10	A
LB 1x10 ⁶	3,75	A	0,13	A	0,10	A
CV (%)	5,05		6,49		9,35	

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas, não diferem ($P>0,05$) pelo teste Tukey; CV:coeficiente de variação.

Na Tabela 6 encontram-se os valores médios de carboidratos não fibrosos, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido das silagens de milho em função dos inoculantes microbianos e dos períodos de exposição ao ar. Observando-se os valores de CNF nos dias de aerobiose em função dos tratamentos nota-se que foram diferentes estatisticamente, principalmente após o 5º dia, entretanto não apresentaram grandes variações numéricas. Os CNF representam os carboidratos solúveis em detergente neutro, ou seja, o conteúdo celular, composto de açúcares, ácidos orgânicos e outros carboidratos de reserva das plantas, tais como: amido, sacarose e frutanas (SNIFFEN et al., 1992; FOX et al., 1995; NRC, 1996; NRC, 2001; HALL, 2000). Assim, os CNF correspondem às frações A e B1 e de acordo com as definições do modelo, a fração A consiste de açúcares e a fração B1 consiste de amido, pectina e glucanas (SNIFFEN et al., 1992).

Tabela 6. Teores de carboidratos não fibrosos, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido (%MS), de silagens de milho AG 1051 inoculadas com doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* (LB) em função dos dias de aerobiose.

Tratamentos	Dias de exposição ao ar										Média
	0		3		5		7				
CNF											
Controle	40,71	A b	44,41	A a	40,77	BC b	43,07	B ab	42,24		
LB 1x10 ⁴	44,43	A a	46,78	A a	39,61	C b	45,39	AB a	44,05		
LB 5x10 ⁴	42,48	A b	46,88	A a	42,25	ABC b	43,48	B b	43,77		
LB 1x10 ⁵	41,93	A ab	44,18	A ab	45,00	A a	41,56	B b	43,17		
LB 5x10 ⁵	44,42	A b	48,12	A a	45,12	A ab	47,88	A a	46,38		
LB 1x10 ⁶	42,28	A b	46,94	A a	44,39	AB ab	43,20	B b	44,20		
CV (%)	3,97										
Média	42,71		46,22		42,86		44,10				
FDN											
Controle	46,01	A ab	42,78	A b	46,77	AB a	45,03	AB ab	45,15		
LB 1x10 ⁴	42,98	A b	40,21	A b	48,14	A a	42,66	BC b	43,50		
LB 5x10 ⁴	44,95	A a	40,43	A b	45,62	ABC a	45,51	AB a	44,13		
LB 1x10 ⁵	46,00	A ab	42,78	A b	43,35	BC b	46,96	A a	44,77		
LB 5x10 ⁵	42,45	A a	39,54	A a	41,78	C a	40,46	C a	41,06		
LB 1x10 ⁶	44,40	A a	40,10	A b	43,51	BC a	46,13	AB a	43,54		
CV (%)	4,11										
Média	44,47		40,97		44,86		44,46				
FDA											
Controle	22,43		22,92		24,27		24,76		23,59	AB	
LB 1x10 ⁴	21,73		20,64		24,17		22,23		22,19	BC	
LB 5x10 ⁴	23,77		22,58		24,51		23,27		23,53	AB	
LB 1x10 ⁵	26,63		22,45		26,52		23,88		24,87	A	
LB 5x10 ⁵	20,37		19,98		24,18		18,16		20,67	C	
LB 1x10 ⁶	22,80		21,05		22,79		22,17		22,20	BC	
CV (%)	10,37										
Média	22,95	ab	21,60	b	24,41	a	22,41	b			

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem (P>0,05) pelo teste Tukey; CV:coeficiente de variação.

O efeito biológico esperado seria a diminuição gradual dos CNF com o passar dos dias de exposição aeróbia. No entanto, por se tratar de um atributo composto pelo somatório de outros componentes [FDN_{cp}, cinzas, EE e PB (%MS)] subtraído de 100, qualquer variação inesperada dentre esses compostos pode gerar uma super ou sub estimativa dos valores reais de carboidratos não fibrosos.

Quanto aos teores de FDN, pode-se observar que no 5º dia de aerobiose a silagem tratada com 5x10⁵ UFC/g de forragem apresentou leve tendência a menores

valores da fração fibrosa (41,78%), no entanto, não apresentou diferença significativa ($P>0,05$) quando comparado às silagens inoculadas com 5×10^4 , 1×10^5 e 1×10^6 UFC/g forragem. No 7º dia de aerobiose a silagem tratada com 5×10^5 UFC/g forragem apresentou o menor valor de FDN apesar de não apresentar diferença significativa ($P>0,05$) da menor dose utilizada do inoculante *L. buchneri* (1×10^4 UFC/g). Indicando que possivelmente tenha havido hidrólise da fração fibrosa e não necessariamente ocorrido efeito positivo da adição de aditivos contendo microrganismos que segundo SILVA et al. (2005), nem sempre são eficientes na disponibilização de constituintes da fração fibrosa por serem passíveis de serem hidrolisados.

Os teores médios de FDA das silagens de milho tratadas ou não com inoculantes microbianos, em função dos dias de exposição aeróbia, são apresentados na Tabela 6. Analisando o efeito de inoculante, constatou-se que os teores de FDA foram semelhantes ($P>0,05$) entre as silagens de milho, apresentando pequena variação no tratamento com a dose 5×10^5 UFC/g forragem, que, por sua vez, não diferiu ($P>0,05$) das demais. O fato da fibra em detergente ácido ser representada em sua maior parte pela celulose pode ser observado analisando o comportamento similar dessa fração (Tabela 7) que no caso, não apresentou efeito significativo ($P>0,05$) em função dos dias de exposição aeróbia e igualmente ao FDA, pouca variação quanto aos tratamentos avaliados.

A análise dos teores de celulose (Tabela 7) evidencia que não houve interação entre os dias de exposição ao ar. Observou-se efeito significativo ($P<0,05$) apenas entre as silagens de milho inoculadas com as doses 1×10^5 e 5×10^5 (UFC/g forragem). A média dos valores relatados entre os tratamentos, são ligeiramente inferiores aos

valores encontrados no híbrido de milho antes da ensilagem. Segundo VAN SOEST (1994), a fração celulose se mantém constante e estável na fase fermentativa da massa ensilada e somente será decrescida com a presença de fungos aeróbios.

Tabela 7. Teores de celulose, hemicelulose e lignina, expressos em porcentagem da matéria seca de silagens milho AG 1051 inoculadas com doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* (LB) em função dos dias de exposição aeróbia.

Tratamentos	Dias de exposição ao ar								Média
	0	3		5		7			
Celulose									
Controle	19,97	20,30		21,03		22,13		20,86AB	
LB 1x10 ⁴	19,64	18,53		21,21		20,13		18,88AB	
LB 5x10 ⁴	21,44	20,35		21,43		20,66		20,97AB	
LB 1x10 ⁵	23,90	20,52		23,30		21,00		22,18A	
LB 5x10 ⁵	18,55	18,30		21,00		16,09		18,48B	
LB 1x10 ⁶	20,86	18,88		20,04		18,73		19,63AB	
CV (%)	11,03								
Média	20,73	19,48		21,34		19,79			
Hemicelulose									
Controle	23,58	A a	19,86	A a	22,49	A a	20,28	A a	21,55
LB 1x10 ⁴	21,26	A ab	19,57	A b	23,97	A a	20,43	A ab	21,31
LB 5x10 ⁴	21,18	A ab	17,84	A b	21,11	AB ab	22,24	A a	20,59
LB 1x10 ⁵	19,37	A ab	20,32	A ab	16,83	B b	23,08	A a	19,90
LB 5x10 ⁵	22,07	A a	19,55	A ab	17,59	B b	22,30	A a	20,38
LB 1x10 ⁶	21,60	A ab	19,05	A b	20,72	AB ab	23,96	A a	21,33
CV (%)	10,44								
Média	21,51	19,36		20,45		20,05			
Lignina									
Controle	2,46	2,62		3,24		2,62		2,73	
LB 1x10 ⁴	2,09	2,10		2,96		2,09		2,31	
LB 5x10 ⁴	2,33	2,23		3,07		2,61		2,56	
LB 1x10 ⁵	2,73	1,93		3,22		2,88		2,69	
LB 5x10 ⁵	1,82	1,69		3,19		2,07		2,19	
LB 1x10 ⁶	1,94	2,17		2,74		3,43		2,57	
CV (%)	25,85								
Média	2,23	bc	2,12	c	3,07	a	2,62	ab	

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem (P>0,05) pelo teste Tukey; CV:coeficiente de variação.

Os resultados referentes ao teor de hemicelulose estão apresentados na Tabela 7. Embora tenha sido observada interação tratamento x dias de exposição ao ar nessa variável, não foi possível detectar diferenças entre os tratamentos com o teste Tukey (5%).

Em relação aos teores de lignina (Tabela 7), apresentaram efeito significativo ($P < 0,05$), aumentando até o 5º dia de aerobiose e com sete dias de exposição ao ar houve diminuição nos teores encontrados. Os valores foram semelhantes ao encontrados por VELHO et al. (2006), de 2,37 a 2,91% da MS em um estudo sobre alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem” e ficaram abaixo daqueles observados para silagem de milho por CABRAL et al. (2000), de 4,37% da MS, por CAMPOS et al. (2001), de 3,6% da MS para silagem, com 29,6% de MS, e por HERNÁNDEZ et al. (2002), de 5,35 e 5,29% da MS, respectivamente na silagem sem e com inoculante. Pode-se afirmar que o valor nutritivo das plantas forrageiras é determinado pela sua composição química, principalmente pelos teores de proteína bruta (PB) e de fibra em detergente ácido (FDA), responsáveis diretos pela digestibilidade da matéria seca (NUSSIO et al., 2002). No entanto, a lignina exerce grande influência sobre a taxa de degradação e a degradabilidade efetiva da parede celular dos alimentos volumosos, sendo um fator determinante do conteúdo de energia digestível das plantas forrageiras por se tratar de um atributo indigestível e capaz de limitar a extensão da digestão dos demais componentes da parede celular, dependendo da sua concentração e composição estrutural (VAN SOEST, 1994 e JUNG, 1989).

Quanto aos teores de PB nas silagens, em geral, aumentaram com a exposição ao ar (Tabela 8). Verificou-se efeito ($P < 0,05$) dos dias de exposição sobre o teor de PB, registrando-se valores de 7,32% no momento da abertura (tempo 0) na silagem com a dose 1×10^5 UFC/g forragem e até 8,25% no tempo 7 na controle que, nesse caso, segundo PITT et al. (1991) podem ser consequência do consumo dos principais

substratos envolvidos nessa fase (carboidratos solúveis e o ácido láctico) consequentemente não houve síntese, mas sim concentração e dos teores de PB.

Tabela 8. Teores de proteína bruta expressa em porcentagem da matéria seca e frações B3 e C (%PB), de silagens de milho AG 1051 inoculadas com doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* (LB) em função dos dias de exposição aeróbia.

Tratamentos	Dias de exposição ao ar								Média	
	0		3		5		7			
Proteína Bruta (%MS)										
Controle	7,86	A b	8,29	A a	8,21	A ab	8,25	A ab	8,15	
LB 1x10 ⁴	7,80	AB a	8,18	AB a	7,83	AB a	8,02	A a	7,96	
LB 5x10 ⁴	7,91	A a	8,05	AB a	7,99	AB a	8,02	A a	7,99	
LB 1x10 ⁵	7,32	B b	7,92	AB a	7,81	AB a	7,92	A a	7,74	
LB 5x10 ⁵	7,64	AB b	7,65	B b	8,20	A a	7,91	A ab	7,85	
LB 1x10 ⁶	7,91	A a	7,88	AB ab	7,51	B b	7,86	A ab	7,79	
CV (%)	2,63									
Média	7,74		7,99		7,93		8,00			
B3 (%PB)										
Controle	4,12	A b	6,29	AB a	6,84	A a	2,75	A b	5,00	
LB 1x10 ⁴	4,50	A ab	4,08	C ab	4,82	AB a	3,01	A b	4,10	
LB 5x10 ⁴	4,85	A b	7,37	A a	3,98	BC bc	2,46	A c	4,66	
LB 1x10 ⁵	5,92	A a	6,23	ABC a	6,12	AB a	1,63	A b	4,97	
LB 5x10 ⁵	4,00	A ab	4,40	BC a	2,55	A bc	1,55	A c	3,13	
LB 1x10 ⁶	4,57	A b	4,51	BC b	6,78	A a	2,12	A c	4,50	
CV (%)	20,69									
Média	4,66		5,48		5,18		2,25			
C (%PB)										
Controle	12,68	A a	10,66	A a	11,20	BC a	12,02	C a	11,64	
LB 1x10 ⁴	11,92	A ab	10,79	A b	13,65	A a	13,92	BC a	12,57	
LB 5x10 ⁴	10,87	A b	8,24	B c	12,96	AB b	15,25	AB a	11,83	
LB 1x10 ⁵	11,71	A b	10,33	AB bc	9,45	CD c	16,34	A a	11,96	
LB 5x10 ⁵	11,41	A ab	9,34	AB bc	8,36	D c	12,40	C a	10,38	
LB 1x10 ⁶	10,77	A b	9,35	AB b	11,28	ABC b	16,43	A a	11,96	
CV (%)	9,66									
Média	11,56		9,79		11,15		14,39			

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem (P>0,05) pelo teste Tukey; CV:coeficiente de variação.

Em relação à ausência de efeito dos inoculantes sobre o teor de PB, resultados semelhantes foram obtidos por KUNG Jr. et al. (1993), os quais também não encontraram diferença nos teores de PB além de MO, FDN e FDA quando da utilização de inoculantes bacterianos em silagens de milho. Nesse mesmo sentido,

KLEINSCHMIT et al. (2006) em um estudo sobre os efeitos do inoculante microbiano na fermentação da silagem de milho não observaram efeito nos teores de PB, FDA e FDN em momento algum.

O fracionamento da proteína envolvido no presente estudo encontrou a fração B3 (%PB), constituída do nitrogênio retido na fração fibrosa potencialmente digestível, ou seja, a hemicelose e a extensina (proteína ligada à parede celular), que possui significativa importância nas reações proteolíticas ocorridas durante a ensilagem (IGARASI, 2002). O efeito de proteólise pode ser observado com a exposição aeróbia principalmente no 7º dia de aerobiose devido ao início do processo de deterioração da massa ensilada. Os valores encontrados são inferiores aos 9,2% (%PB) observados por BACKES et al. (2000) em silagem de milho tratada com aditivo microbiano assim como os $8,54 \pm 4,32$ (%PB) encontrados por VALADARES FILHO et al. (2002) em um estudo sobre fracionamento do nitrogênio em silagem de milho. Nota-se que não houve efeitos dos tratamentos nas silagens avaliadas com relação à fração B3.

Quanto aos teores da fração C (%PB), os valores encontrados estão presentes na Tabela 8 e são semelhantes aos $11,91 \pm 2,63$ (%PB) relatados por VALADARES FILHO et al. (2002) da fração C. Apenas no 7º dia de exposição ao ar as silagens inoculadas com 5×10^4 , 1×10^5 e 1×10^6 (UFC/g forragem) apresentaram valores superiores a 15%, o que, segundo MAHANNA (1993), indica a ocorrência de alterações decorrentes do aquecimento excessivo da silagem, resultando na formação de compostos de Maillard, que aumenta os teores de nitrogênio ligado à parede celular indigestível e conseqüentemente, indisponibilizam às formas nitrogenadas para o

ruminante por se tornarem altamente resistentes à degradação microbiana e enzimática (BALSALOBRE, 2003).

Na Tabela 9 são apresentados os valores médios de digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria seca (DIVVMS) das silagens de milho, tratadas ou não com inoculantes microbianos, em função dos dias de exposição aeróbia. Observou-se menor ($P < 0,05$) valor de DIVVMS na silagem de milho controle no 7º dia de exposição aeróbia, em decorrência do processo de deterioração aeróbio no qual ocorre consumo de frações digestíveis pelos microrganismos, acarretando em redução da digestibilidade e do conteúdo de energia (JOBIM & GONÇALVES, 2003). Nesse mesmo dia de aerobiose, as silagens de milho tratadas com as duas maiores dose do inoculante microbiano apresentaram maiores valores de DIVVMS quando comparada à silagem controle.

Dados sumarizados por MUCK & KUNG Jr. (1997) envolvendo estudos de silagens tratadas com inoculantes microbianos indicaram que a inoculação melhorou a digestibilidade da matéria seca das silagens em aproximadamente 30%, em um total de 82 estudos avaliados. De acordo com MUCK (1993), as causas desse efeito não são completamente claras, uma vez que as bactérias ácido-láticas não degradam componentes da parede celular ou qualquer outro componente que limite a digestibilidade. Segundo esse autor, o menor pH de silagens inoculadas pode promover a hidrólise ácida da hemicelulose, resultando em ruptura das células da forragem e favorecendo um ataque mais extensivo pelos microrganismos ruminais.

Tabela 9. Valores de digestibilidade *in vitro* verdadeira e de nutrientes digestíveis totais expressos em porcentagem da matéria seca de silagens de milho AG 1051 inoculadas com doses crescentes de *Lactobacillus buchneri* (LB) em função dos dias de exposição aeróbia.

Tratamentos	Dias de exposição ao ar								Média
	0		3		5		7		
	Digestibilidade (DIVVMS)								
Controle	75,34	A ab	79,94	B a	75,4	A ab	70,93	B b	76,48
LB 1x10 ⁴	76,13	A a	80,6	AB a	74,94	A a	76,92	AB a	76,00
LB 5x10 ⁴	75,5	A a	80,05	AB a	74,1	A a	75,42	AB a	76,33
LB 1x10 ⁵	74,8	A a	86,81	A a	71,94	A a	77,5	AB b	77,13
LB 5x10 ⁵	79,73	A a	82,32	AB a	79,81	A a	85,39	A a	80,31
LB 1x10 ⁶	76,09	A a	82,09	AB a	80,84	A a	79,63	A a	80,73
CV (%)									
Média	76,27		81,97		76,17		77,63		
	Nutrientes digestíveis totais (NDT)								
Controle	65,33	A a	66,91	A a	66,21	C a	66,17	AB a	66,15
LB 1x10 ⁴	66,91	A a	66,97	A a	65,96	C a	66,44	AB a	66,57
LB 5x10 ⁴	65,97	A b	68,04	A a	66,70	BC ab	66,23	AB b	66,74
LB 1x10 ⁵	66,47	A b	66,63	A b	68,27	AB a	65,29	B b	66,67
LB 5x10 ⁵	66,36	A c	68,38	A ab	69,68	A a	67,87	A bc	68,07
LB 1x10 ⁶	65,75	A b	67,41	A a	66,74	BC ab	66,68	AB ab	66,64
CV (%)	1,29								
Média	66,13		67,39		67,26		66,45		

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem ($P>0,05$) pelo teste Tukey; CV:coeficiente de variação.

Na análise dos dados de DIVVMS (Tabela 9), deve-se considerar que estes valores são superestimados, aproximadamente, em 11,9 unidades percentuais em relação àqueles obtidos pela técnica descrita por TILLEY e TERRY (1963), uma vez que se procede à determinação do conteúdo de FDN do resíduo não-digerido na fase de fermentação (VAN SOEST, 1994; MOORE & SOLLENBERGER, 1997).

As concentrações de NDT encontradas estão apresentadas na Tabela 9. Verifica-se que não houve efeito significativo ($P>0,05$) entre as silagens até o 3º dia de exposição aeróbia. A diferença pode ser observada no 5º dia mesmo que com pouca variação. RODRIGUES et al. (2002), verificaram valores semelhantes aos encontrados neste estudo, com 65,07% e 65,14% em silagens de milho não tratada e tratada com

inoculante microbiano, respectivamente. Segundo o NRC (1989), silagens com altas percentagens de grãos mostrariam NDT de 70%, enquanto aquelas, com baixas, o NDT seria de 60%.

3.5 Estabilidade aeróbia das silagens de milho na fase de aerobiose dos silos

A estabilidade aeróbia da silagem está associada à redução do desenvolvimento de bactérias, fungos e leveduras, responsáveis por alterações microbiológicas após a abertura do silo. A pós-fermentação será mais intensa quanto melhor for a qualidade da silagem, em razão dos maiores teores de carboidratos solúveis e de ácido láctico residuais (PEREIRA & REIS, 2001).

No presente trabalho, a estabilidade aeróbia foi avaliada como sendo o tempo observado para que a massa de silagem, depois de retirada do silo, apresentasse elevação de temperatura de 2°C em relação à temperatura de referência (ambiente). Adicionalmente, como uma outra forma de avaliação, a estabilidade aeróbia também poderia ser caracterizada pela temperatura acumulada durante sete dias após a abertura dos silos experimentais.

Os resultados dos tratamentos das silagens e dos respectivos acúmulos de temperatura, nos sete primeiros dias após abertura dos silos experimentais, estão apresentados na Figura 2. Pode-se observar que, em termos de acúmulos de temperatura, as silagens com as duas maiores concentrações de *L. buchneri* apresentaram menores picos de temperatura, além de demorar mais tempo para que esses picos fossem atingidos, quando comparadas à silagem não tratada e àquelas

com menores concentrações de *L. buchneri*. Tal fato indicou que, possivelmente o perfil pós-fermentativo das silagens inoculadas com 5×10^5 e 1×10^6 (UFC/g forragem) proporcionou redução do crescimento de bactérias indesejáveis, fungos e leveduras com maior eficácia do que as silagens não tratadas e com menores concentrações do inoculante.

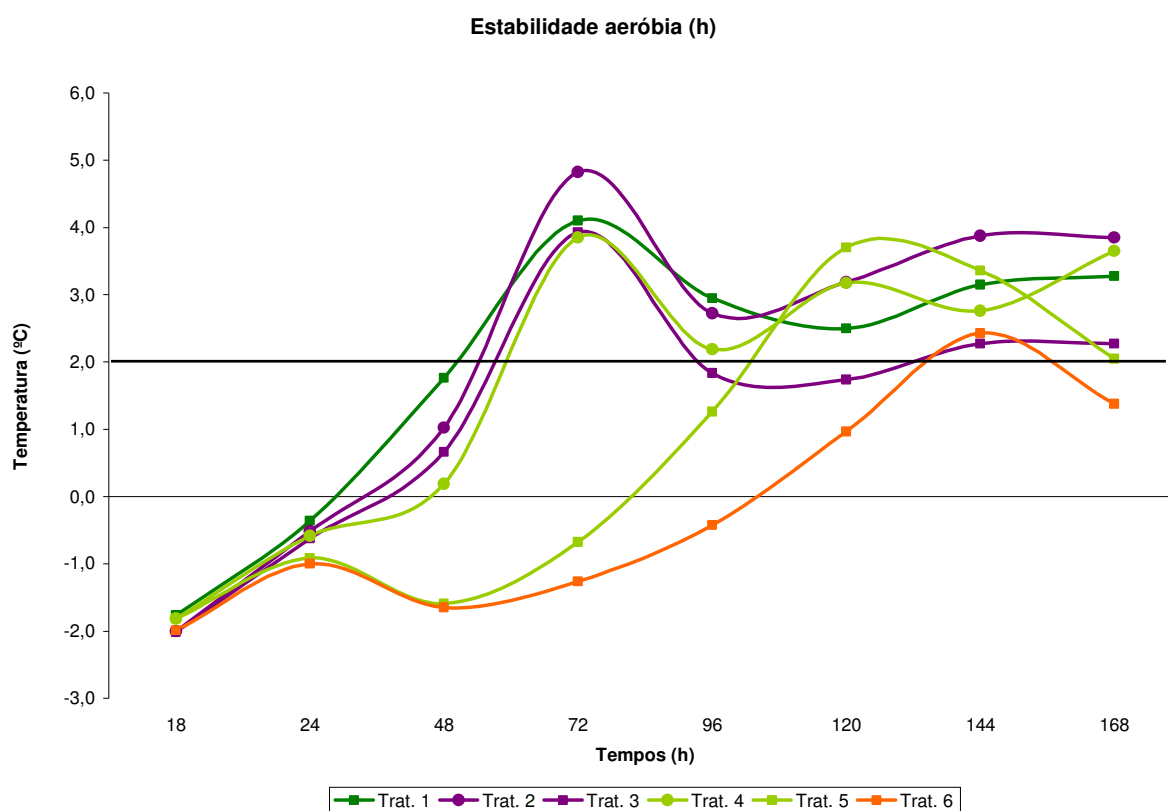


Figura 2. Temperatura alcançada acima da temperatura ambiente e quebra de estabilidade (2°C) das silagens de milho AG 1051 submetidas aos diferentes tratamentos ao longo das horas de exposição aeróbia. Trat.1 :controle; Trat.2 :*L. buchneri* 1×10^4 ; Trat.3 :*L. buchneri* 5×10^4 ; Trat.4 : *L. buchneri* 1×10^5 ; Trat.5 :*L. buchneri* 5×10^5 ; Trat.6 :*L. buchneri* 1×10^6 (UFC/g forragem).

Os maiores acúmulos de temperatura significam maior aquecimento da massa ensilada após a abertura, decorrente da maior intensidade de reações promovidas

pelos microrganismos ao ambiente aeróbio, os quais se utilizam dos nutrientes disponíveis na silagem, provocando perdas no valor nutritivo (McDONALD et al., 1991; BALSALOBRE et al., 2001). Essa afirmação pode ser reforçada a partir da análise da Tabela 3 em que é possível observar maiores populações de fungos e de leveduras no 7º dia de aerobiose e no momento da abertura (Dia 0) apenas para as leveduras nas silagens de milho controle, 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 (UFC/g forragem), silagens estas que apresentaram maiores acúmulos de temperatura durante a fase de aerobiose dos silos.

Segundo DRIEHUIS et al. (2001), a aplicação de *Lactobacillus buchneri* isoladamente ou associado a bactérias lácticas eleva a estabilidade aeróbia da silagem de milho, reduzindo a população de leveduras e de fungos. RANJIT & KUNG Jr. (2000) realizaram um experimento com a inoculação de silagem de milho com cepas de LAB homofermentativas (*L. plantarum*), e homofermentativas mais heterofermentativas (*L. buchneri*), e concluíram que para essa silagem, a adição de cepas de *L. buchneri*, determinou a melhor estabilidade aeróbia. Entretanto RANJIT et al. (2002) observaram em silagens de milho tratadas com doses de *L. buchneri* $\geq 5 \times 10^5$ UFC/g de forragem foram mais efetivas na estabilidade aeróbia.

4. CONCLUSÕES

O tratamento de silagens de milho com *L. buchneri* melhora a estabilidade aeróbia e pode ser recomendável em situações onde a silagem é transportada ou exposta ao ar por algum tempo antes da oferta aos animais. No entanto, as alterações obtidas com o uso de inoculantes foram mínimas do ponto de vista bromatológico e fermentativo.

5. REFERÊNCIAS

BACKES, A.A. et al. Determinação das frações da proteína e carboidratos de alguns alimentos conforme metodologia do CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000. Cd-rom.

BALSALOBRE, M. A. A.; NUSSIO, L. G.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Controle de perdas na produção de silagens de gramíneas tropicais. Workshop sobre silagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38. Piracicaba, 2001. **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 890-911.

BALSALOBRE, M.A.A.; CORSI, M.; SANTOS, P.M.; VIEIRA, I.; CÁRDENAS, R.R. Composição química e fracionamento do nitrogênio e dos carboidratos do capim-tanzânia irrigado sob três níveis de resíduo pós-pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.519-528, 2003.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Dinâmica microbológica e alterações químicas das silagens de capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) após a abertura dos silos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM).

BERNARDES, T. F. **Controle da deterioração aeróbia de silagens**. 2006. 103f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

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

BUTLER, G.W.; BARLEY, R.W. **Chemistry and Biochemistry of herbage**. Academic Press. 1973.v.3. 295 p.

CABRAL, L.S. et al. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, supl 1, p.2087-2098, 2000.

CAMPOS, F.P. et al. Digestibilidade in vitro/gás de volumosos exclusivos ou combinados avaliados pelo resíduo remanescente da digestão da matéria seca e produção de gás. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1579-1589, 2001.

DAVIDSON, P.M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: DOULE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTEVILLE, T.J. (Eds) Food **Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington: ASM Press, 1997, p. 520-556.

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

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; Van WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.56, n.4, p.330-343, 2001.

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.11, p.3575-3581, 2003.

FISCHER, D.S; BURNS, J.C. Quality analysis of summer-annual forages. II. Effects of carbohydrate constituents on silage fermentation. **Agronomy Journal**, v. 79, n.2, p. 242-248, 1987.

FOX, D.G. et al. Application of the Cornell net carbohydrate and protein model for cattle consuming forages. **Journal of Animal Science**, v.73, p.267-277, 1995.

GUIM, A. *et al.* Estabilidade aeróbia de silagens de capimelefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) emurcheado e tratado com inoculante microbiano. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2176-2185, 2002.

HALL, M.B. **Neutral detergent-soluble carbohydrates: nutritional relevance and analysis, a laboratory manual**. Gainesville : University of Florida, 2000. (Extension Bulletin, 339).

HARRISON, J.H.; BLAUWIEKEL, R. Fermentation and utilization of grass silage. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.10, p.3209-3235, 1994.

HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, p.35-56, 1993.

HERNÁNDEZ, F.I.L. et al. Avaliação da composição de vários alimentos e determinação da cinética ruminal da proteína, utilizando o método de produção de gás e amônia *in vitro*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.243-255, 2002.

IGARASI, M.S. **Controle de perdas na ensilagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jack. Cv Tanzânia) sob os efeitos do teor de matéria seca, do tamanho**

de partícula, da estação do ano e da presença de inoculante bacteriano.

Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2002. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2002.

JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D. Microbiologia de forragens conservadas. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R.; MOREIRA, A.L. (Ed.) **Volumosos na produção de ruminantes: Valor alimentício de forragens**. Jaboticabal: Funep, 2003, p.1-26.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A.; SCHIMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suplemento especial, p.101-119, 2007

JUNG, H.G. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. **Agronomie Journal**, v.81, p.33-38,1989.

KLEINSCHMIT, D.H.; KUNG Jr., L. The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the fermentation of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.10, p.3999-4004, 2006.

KUNG, Jr., L.; CHEN, J.H.; KRECK, E.M. et al. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3763-3770, 1993.

KUNG Jr., L. Preparation of silage water extracts for chemical analyses. **Standard operating procedure**. University of Delaware- Ruminant Nutrition Lab.- Worrilow 309, 1996.

KUNG Jr., L.; RANJIT, N.K. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of Dairy Science**, v.84, n5, p.1149-1155, 2001.

KUNG Jr., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.) **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003, p.251-304.

MAHANNA, B. Troubleshooting silages problems. In: STATE APPLIED NUTRITION CONFERENCE, 4., 1993, West Des Moines. **Summary...** West Des Moines: Pioneer Hybrid International Inc., 1993. p.1-21

MARI, L.J. **Intervalo entre cortes em capim-marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochst ex. A.Rich.) Stapf cv. Marandu): produção valor nutritivo e perdas associadas à fermentação da silagem**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). - Escola Superior Agrícola "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 159p., 2003.

McDONALD, P.; HERDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcomb Publications, 1991. 340p.

MOORE, J.E., SOLLENBERGER, L.E. Techniques to predict pasture intake. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1997. p.81-96.

MOON, N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, v.55, p.453-460, 1983.

MORAIS, J.P.G.; BOIN, C. Avaliação de aditivo microbiano quanto à recuperação da matéria seca e no perfil da fermentação da silagem de milho. 1996. Disponível em: <http://www.sbz.org.br/eventos/Fortaleza/Nut_rumi/sbz579.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2003.

MUCK, R.E.; PITT, R.E.; LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage. 1. Microbial characteristics. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.46, n.3, p. 283-290, 1991.

MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. In: SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL, 1993, New York. **Proceedings...** New York: NRAES, 1993. n.67, p.106-116.

MUCK, R.E.; KUNG JR., L. Effects of silage additives on ensiling. In: SILAGE:FIELD TO FEEDBUNK, 1997, Pennsylvania. **Proceedings...** New York: NRAES, 1997. n.99, p.187-199.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL . **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.ed. rev. Washington, DC: National Academy. 1989. 157p.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requeriments of beef cattle**. 7.ed. Washington D.C.: National Academy, 1996. 404p.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7.ed. Washington D.C.: National Academy, 2001. 381p.

NUSSIO, L.G.; MANZANO, R.P. Silagem de milho. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS: Alimentação suplementar, 7, Piracicaba, 1999. **Anais...** Piracicaba, FEALQ, p.7-46, 1999.

NUSSIO, L.G.; SIMAS, J.E.C.; LIMA, M.L.M. Determinação do ponto de maturidade ideal para colheita do milho para silagem. In: NUSSIO, L.G., ZOPOLLATO, M.; MOURA, J.C. (Ed). **Milho para a silagem**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 11-26.

NUSSIO, L.G; PAZIANI, S.F.; NUSSIO, C. M. B. Ensilagem de capins tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 39. , Recife, 2002. **Anais...** Recife: BATISTA, A. M. V., BARBOSA S. B. P., dos SANTOS M. V. F., FERREIRA L. M. C., 2002. p. 60-83.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; KROONEMAN, J. GOTTSCHAL, J.C.; SPOELSTRA, S.F.; FABER, F.; DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1-2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, p.125-132, 2001.

PEREIRA, J. R. A.; REIS, R. A. Produção e utilização de forragem pré-secada. In: SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS. TEMAS EM EVIDÊNCIA, 2, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2001, p. 235-254.

PITT, R.E.; MUCK, R.E.; PICKERING, N.B. A model of aerobic fungal growth in silage. 2. Aerobic stability. **Grass and Forage Science**, v.46, p.301-312, 1991.

PRESTON, T.R. Analytical methods for characterizing In: **Feed resources for ruminants**: better utilization of crop residues and by products in animal feeding: research guidelines. 2 A practical manual for research workers. Rome: FAO, 1986, p. 106.

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

RANJIT, N.K.; TAYLOR, C.C.; KUNG J.L. Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. **Grass and Forage Science**, v. 57, p.73-81, 2002.

RODRIGUES, P.H.M.; ANDRADE, S.J.T.; RUZANTE, J.M. et al. Valor nutritivo da silagem de milho sob o efeito da inoculação de bactérias ácido-láticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2380-85, 2002.

RUIZ, R.L.; MUNARI, D.P. Microbiologia da silagem. In: **Microbiologia zootécnica**. São Paulo: Roca, 1992. p.97-122.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

SILVA, A.V. et al. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1881-1890, 2005.

SIQUEIRA, G.R. **Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) ensilada com aditivos químicos e bacterianos**. 2005. 91f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J., D., Van SOEST, P.J., FOX, D.G., RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3562-3577, 1992.

SPECK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 701p. 1976.

TAYLOR, C.C.; RANJIT, N.J.; MILLS, J.A. et al. The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability and nutritive value for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.7, p.1793-1800, 2002.

TILLEY, J.A., TERRY, A.R. A two-stage technique for *in vitro* digestion of forages crops. **J. Br. Grassl. Soc.**, 18(1):104-111. 1963

VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JR., V.R.; CAPPELLE, E.R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa/DZO, 2002. 279p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. **Nutritional ecology of the ruminant** 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

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

WARD, R. Fermentation Analysis: Use and Interpretation. In: **Tri-State Dairy Nutrition Conference**, Fort Wayne, Indiana, USA, p. 117-135, 2000

WEIMER, P.J.; LOPEZ-GUISA, J.M.; FRENCH, A.D. Effect of cellulose fine structure on kinetics of its digestion by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.56, n.8, 1990. p.2421-2429.

WILSON, R. K. A rapid accurate method for measuring volatile fatty acids and lactic acid in silage. Research Report, Agricultural Institute, Dunsinea Research Center. Dublin,

Ireland, 7p. 1971.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effect of air on silage. **Journal Appl. Bacteriol.** 68:101–116, 1990.

YILDIRIM, Z.; AVSAR, Y.K.; YILDIRIM, M. Factors affecting the adsorption of buchnericin LB, a bacteriocin produced by *Lactobacillus buchneri*. **Microbiological Research**, v.157, p.103-107, 2002.

Capítulo 3 – AVALIAÇÃO DE FILME DE BAIXA PERMEABILIDADE AO OXIGÊNIO NA VEDAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA SILAGEM DE MILHO

RESUMO - Grande parte das silagens armazenadas encontra-se em silos horizontais expostas ao ar e propensas ao desperdício, especialmente na parte superior próximas das paredes por não possuir uma vedação adequada. O problema torna-se ainda maior com a utilização do silo horizontal tipo superfície onde a área de exposição para trocas gasosas com o ambiente é maior e conseqüentemente, maiores serão as perdas. O objetivo desse trabalho foi avaliar as perdas de matéria seca, a composição químico-bromatológicas e a presença de fungos e leveduras das silagens de milho, na região periférica de silos superfícies, quando vedada com filme de baixa permeabilidade ao oxigênio. Para tanto, dois silos tipo superfície foram divididos no sentido horizontal, cobertos com o filme de baixa permeabilidade de um lado e com o filme convencional do outro. Foram colocados 12 sacos de nylon em cada silo contendo cerca de 3 kg de forragem, colocados dentro dos silos durante o abastecimento divididos em três zonas de cada silo (terço inicial, região central e terço final). O valor médio de nutrientes, de modo geral, não foi afetado pelos fatores estudados e as perdas foram ligeiramente inferiores quando a implantação da nova tecnologia obedeceu as premissas para um processo de fermentação adequado. O filme de baixa permeabilidade ao oxigênio reduz a ocorrência de leveduras e de fungos quando é imposto ao silo um avanço satisfatório da massa de silagem durante o desabastecimento

Palavras-chave: Composição química, lona, perdas, *Zea mays* L.

1. INTRODUÇÃO

É indiscutível a importância da silagem como uma das principais ferramentas para manutenção da produtividade animal no período das secas, sendo que, em sistemas totalmente confinados, essa forma de conservação ainda desempenha o papel de assegurar uma alimentação estável durante o ano todo (MAGALHÃES, 2002).

Neste sentido, silos horizontais são geralmente atrativos em razão da maior economia no armazenamento de forragens sob a forma de silagem, no entanto, permitem grande superfície de exposição e de trocas gasosas com o ambiente, durante o enchimento e também após a vedação (DICKERSON, 1992). Segundo ASHBELL & LISKER (1988), grande parte das silagens armazenadas encontram-se em silos horizontais expostas ao ar e propensas ao desperdício, especialmente na parte superior próxima da parede por não possuir uma vedação adequada levando a penetração do ar e multiplicação de microrganismos aeróbios, resultando em deterioração aeróbia. No estudo de ASHBELL & KASHANCI (1987), as perdas de superfície foram de 76% nas faces laterais, próximas às paredes e menores ao centro (16%).

BORREANI et al. (2007) afirma que dentre os materiais utilizados, a silagem de milho é a mais susceptível a deterioração quando expostas ao oxigênio (ASHBELL & WEINBERG, 1992; KUNG et al., 1998). Isso resulta em perdas na digestibilidade (BOLSEN et al., 1993), na possibilidade de produção de micotoxinas (BORREANI et al., 2005; GARON et al., 2006) e crescimento de espécies patogênicas (IVANEK et al., 2006) que podem causar perdas de aceitabilidade da silagem e produzir desordens metabólicas em vacas leiteiras (WILKINSON, 1999; TREVISI et al., 2003).

Em revisão sobre microbiologia de silagens JOBIM & GONÇALVES (2003) alertam para o efeito da entrada de oxigênio na massa ensilada, pois essa propicia atuação de microrganismos deterioradores, reduzindo açúcares solúveis e ácidos orgânicos, resultando em aumento de pH, redução na digestibilidade e no conteúdo de energia. Conseqüentemente as silagens deterioradas podem conduzir a perdas econômicas elevadas e baixo desempenho animal.

Como o processo de deterioração aeróbia é essencialmente microbiano e o crescimento dos microrganismos é condicionado por condições físicas e químicas (PAHLOW et al., 2003), um dos pré-requisitos essenciais é minimizar a presença de O₂ no silo, após seu fechamento. Desse modo, o filme plástico assume um papel importante durante a etapa de vedação e a sua principal função é manter a anaerobiose (HONIG, 1991).

O presente trabalho tem por objetivo, avaliar as características da silagem de milho, na região periférica de silos superfícies, quando vedada com filme de baixa permeabilidade ao oxigênio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na área experimental da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – UNESP, Campus de Jaboticabal/SP, situada a 21º 15' 22" de latitude sul e 48º 18' 58" de longitude oeste de Greenwich e a uma latitude de 595 metros.

O clima é classificado como Cwa – mesotérmico de inverno seco, pelo sistema internacional de Köppen. Sendo assim, apresenta temperatura média anual máxima de

22,3°C e mínima de 15,2°C no mês mais frio. A precipitação pluvial média é de aproximadamente 1400 mm, com 85% das chuvas concentradas nos meses de outubro a março.

Os híbridos de milho utilizados foram o DKB 466 e o AG 1051, ambos semeados no dia 15 de dezembro de 2005. A semeadura dos materiais foi realizado mecanicamente e entre os tratamentos culturais, realizou-se uma adubação de plantio de 350 Kg/ha da fórmula 8-20-20. A colheita dos mesmos ocorreu nos dias 29 de março e 05 de abril de 2006, respectivamente, quando os materiais apresentavam 30 a 35% matéria seca (MS). Momento em que a consistência dos grãos variou entre o estágio pastoso e o farináceo duro, o que corresponde à visualização da linha de leite entre 1/3 e 2/3 (NUSSIO e MANZANO, 1999).

Foram confeccionados dois silos tipo superfície, um para cada híbrido, cujas características estão descritas na Tabela 2. Para verificar a eficiência do filme com baixa permeabilidade ao oxigênio (FBP), no momento do fechamento, o silo foi dividido em duas partes ao longo do comprimento, ou seja, metade foi coberta com a lona FBP mais o filme convencional (FC) e a outra metade somente com o FC. Isto se fez necessário, pois as amostras das silagens durante a remoção devem ser retiradas contemporaneamente, devido à elevada influência dos parâmetros climáticos sobre o fenômeno estudado.

Tabela 2. Características dos silos 1 e 2

Variáveis	Silo 1	Silo 2
Período de consumo	Inverno	Inverno
Dimensões do silo (m)		
Comprimento	13 m	13 m
Largura	4,5 m	4,5
Altura	0,80 m	0,90 m
Avanço diário (cm)	0,36 cm (diário)	0,23 cm (diário)

*Silo 1 = híbrido DKB 466

*Silo 2 = híbrido AG 1051

Na avaliação das variáveis estudadas, durante o abastecimento, foram colocados em cada silo 12 sacos de nylon (6 sacos por tratamento) contendo cerca de 3 kg de forragem. Estes foram posicionados na zona periférica, próximo aos plásticos utilizados na cobertura, e distribuídos horizontalmente ao longo do silo (início, meio e fim), conforme a Figura 1.

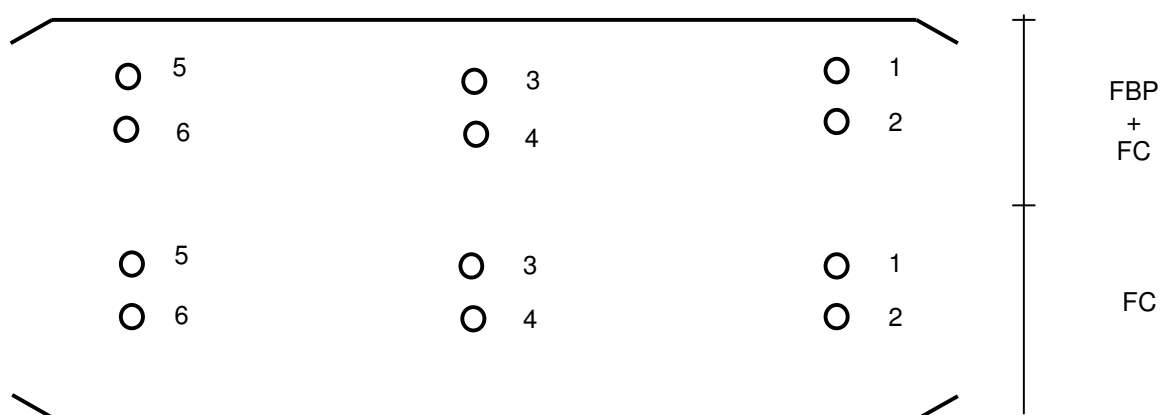


Figura 1 - Distribuição dos sacos utilizados na determinação das variáveis cobertos com o Filme de baixa permeabilidade + Filme convencional (FBP+FC) e com o Filme convencional (FC)

2.1 Amostragem e análises químico-bromatológicas

Decorridos 62 dias e 96 dias de fermentação para os silos 1 (híbrido DKB 466) e 2 (AG 1051), respectivamente estes foram abertos e os sacos foram sendo retirados conforme sua utilização, limpos para retirada dos excessos de silagem contida na parte externa dos sacos e então pesados a fim de se calcular as perdas de MS. Após este procedimento, todo o seu conteúdo era homogeneizado e dividido para a realização das análises químicas e microbiológicas.

Uma sub-amostra destinou-se à determinação do pH segundo os procedimentos descrito por SILVA & QUEIROZ (2002), com base na diluição de nove gramas de silagem fresca em 60 mL de água destilada e leitura do pH após 30 minutos de repouso. A segunda sub-amostra após elaboração do extrato aquoso segundo KUNG Jr. (1996), destinou-se às determinações do N-NH₃/N_{Total}, conforme PRESTON (1986) e ácidos graxos voláteis segundo a metodologia descrita por WILSON (1971) em cromatógrafo líquido-gasoso. A diluição utilizada foi de 0,25 mL de amostra mais 0,05mL do ácido fórmico. O modelo do equipamento utilizado foi o CG 270, o gás de arraste e os comburentes foram nitrogênio, hidrogênio e oxigênio, respectivamente, nas vazões de 30, 30 e 300 mL/min. A temperatura do injetor, do detector e da coluna foram de 200, 220 e 190°C, respectivamente.

Outra amostra foi pesada e levada para estufa de ventilação forçada a 55 °C durante 72 horas. E uma terceira amostra foi devidamente armazenada sob condições de refrigeração por um período de 4 a 5 horas e destinou-se às avaliações microbiológicas.

A forragem levada à estufa, colhidos antes da ensilagem e após a abertura dos silos, foram novamente pesados, moídos em moinho de faca dotado de peneira de 5 mm para obtenção de uma amostra grosseiramente moída. A moagem final, realizada após a moagem preliminar, tem por finalidade obter um pó bastante fino com o tamanho de partículas menor que 1 mm e posteriormente acondicionadas em potes de plástico para as avaliações nutricionais subseqüentes.

Determinaram-se os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), nitrogênio ligado a FDN (N-FDN) e extrato etéreo (EE) segundo os métodos descritos por SILVA & QUEIROZ (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) foram avaliados pelo micro-método, seguindo-se a metodologia descrita originalmente por WEINER et al. (1990) com algumas alterações.

Para determinação da celulose utilizou-se o ácido sulfúrico a 72% (VAN SOEST, 1994), enquanto os teores de lignina foram calculados por diferença entre FDA e celulose e os teores de hemicelulose foram calculados por diferença entre FDN e FDA. O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculado de acordo com a fórmula descrita por SNIFFEN et al. (1992).

$CNF = 100 - (FDN (PB) + PB + EE + MM)$ onde:

CNF= carboidratos não fibrosos;

FDN (PB)= fibra em detergente neutro livre de nitrogênio;

PB= proteína bruta;

EE= extrato etéreo;

MM= matéria mineral.

2.2 Avaliação microbiológica

As análises microbiológicas foram efetuadas após a abertura dos silos e realizadas no Laboratório de Microbiologia, pertencente ao Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal - SP.

Pesou-se previamente 25 g (matéria verde) de cada amostra às quais foram adicionados 225 mL de solução de água peptonada bacteriológica (Biolife). Após agitação foram retirados 10 mL do extrato para as diluições posteriores em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina fisiológica estéril (8,5 g de NaCl/litro de água destilada). A partir dos extratos diluídos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}), foram realizadas as sementeiras (0,1 mL por placa) em placas de Petri descartáveis contendo o meio Ágar Batata + Dextrose acidificado (Biolife) a um pH=4,5 o suficiente para inibir bactérias e incubadas durante 72h em aerobiose (25 a 28°C). Após este procedimento foram realizadas as contagens de leveduras e fungos com auxílio de lupa. Segundo a metodologia proposta por SPECK (1976).

Na contagem de fungos foi utilizado o mesmo meio de cultura e temperatura, sendo a incubação realizada por 120 horas, pois necessitam de mais tempo para se desenvolverem. A diferenciação entre leveduras e fungos foi realizada por meio da estrutura física das colônias, uma vez que as leveduras são microrganismos que apresentam colônias formadas por organismos unicelulares, enquanto que os fungos são multicelulares filamentosos (McDONALD et al. 1991).

2.3 Análise dos dados

Os dados de cada tratamento foram originados de um mesmo silo, portanto, não houve repetição experimental. Desta forma, as variáveis estudadas foram submetidas apenas à análise descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As características referentes à composição químico-bromatológica das silagens dos silos 1 e 2 no momento da ensilagem estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características das silagens de milho dos silos 1 e 2 antes da ensilagem

Variáveis	Híbrido 1 (DKB 466)	Híbrido 2 (AG 1051)
MS (%MS)	31,04	30,98
PB (%MS)	8,93	8,56
FDN (%MS)	48,15	48,19
FDA (%MS)	21,13	21,52
CNF	38,13	43,84
Celulose	18,99	19,31
Hemicelulose	27,02	21,67
Lignina	2,14	2,21
EE (%MS)	2,60	2,15
Cinzas (%MS)	4,79	3,79

Os teores de matéria seca (MS) dos híbridos variaram de 31,04 a 30,98% no silo 1 e 2, respectivamente e foram acima dos 25% preconizados por McDONALD et al. (1991) como condição necessária para que as perdas de efluentes dentro do silo sejam minimizadas e, conseqüentemente, ocorra a manutenção dos nutrientes do material ensilado.

Os teores de proteína bruta dos híbridos de milho ficaram em torno e 8,93% para silo 1 e 8,56% para o silo 2, considerados numericamente valores muito próximos e

semelhantes aos encontrados por RODRIGUES et al. (2004) que trabalharam com dois híbridos e obtiveram teores de proteína na planta inteira de 8,48 a 9,99% enquanto que SILVA et al. (2005) verificou valores de PB de 7,68% em plantas de milho antes da ensilagem. ALMEIDA FILHO et al. (1999) em um trabalho com dezenove cultivares de milho, encontrou valores de proteína entre 5,7 e 8,22%, tendo o maior teor sido observado para o híbrido Agrocerec 1051.

Analisando a Tabela 1, no parâmetro fibra em detergente neutro (FDN), não se observou diferença numérica entre as silagens dos dois silos, tendo 48,15% na silagem do silo 1 e 48,19% na silagem do silo 2. Estes valores são superiores aos 47,49 e 46,00% encontrados por ZANINETTI (2007) para os híbridos DKB 466 e AG 1051, respectivamente. Quanto aos valores de fibra em detergente ácido (FDA), os valores encontrados são de 21,13 e 21,52% das silagens dos silos 1 e 2, respectivamente. ZANINETTI (2007) relatou valores próximos aos encontrados nesse trabalho, com 20,81% no híbrido DKB 466 e 20,86% no híbrido AG 1051.

Os valores calculados de carboidratos não fibrosos (CNF), que representa os carboidratos solúveis em detergente neutro, ou seja, o conteúdo celular da planta variou de 38,13% na silagem do silo 1 e 43,84% na silagem do silo 2. Em um estudo sobre fracionamento dos carboidratos em silagens de milho MELLO et al. (2004a) encontraram valores inferiores de CNF em híbridos de milho entre 35,16 e 40,01%.

Os resultados da composição químico-bromatológica, da população de fungos e leveduras e das perdas de MS da silagem de milho do silo 1 e do silo 2 estão apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3. Características da silagem de milho do silo 1 (DKB 466), coberta com dois tipos de filmes plásticos

Variáveis	FC ¹	FBP ²
MS (%MS)	29,25±0,69	28,78±1,10
PB (%MS)	7,40±0,26	7,70±0,22
FDN (%MS)	47,90±3,72	48,49±2,23
FDA (%MS)	26,42±2,65	25,03±2,93
CNF	41,12±4,37	40,20±2,68
Celulose	19,24±1,41	19,27±0,96
Hemicelulose	26,48±2,46	27,05±3,01
Lignina	2,18±0,25	2,17±0,29
pH	3,88±0,09	3,69±0,12
N-NH ₃ /N	7,13±1,05	8,22±1,20
Ácido acético (%MS)	3,02±0,54	2,92±0,44
Leveduras (log ufc/g)	3,13±0,46	1,99±0,26
Fungos (log ufc/g)	1,73±0,47	1,03±0,45
Perdas (%MS)	7,70±3,30	6,20±2,70

¹FC = Filme convencional

²FBP = Filme de baixa permeabilidade ao oxigênio

Tabela 4. Características da silagem de milho do silo 2 (AG 1051), coberta com dois tipos de filmes plásticos

Variáveis	FC ¹	FBP ²
MS (%MS)	25,52±0,51	25,15±0,97
PB (%MS)	7,26±0,37	7,47±0,27
FDN (%MS)	47,34±1,88	46,31±1,66
FDA (%MS)	21,42±1,55	21,44±1,19
CNF	40,85±2,24	41,70±1,42
Celulose	23,39±1,80	22,49±1,28
Hemicelulose	20,92±1,61	21,28±1,77
Lignina	2,65±0,26	2,54±1,25
pH	5,70±0,63	5,47±0,72
N-NH ₃ /N	11,87±2,56	11,36±0,91
Ácido acético (%MS)	4,62±0,83	4,25±1,06
Leveduras (log ufc/g)	6,16±1,11	6,00±0,60
Fungos (log ufc/g)	5,15±1,44	4,51±1,09
Perdas (%MS)	6,80±1,80	9,30±2,60

¹FC = Filme convencional

²FBP = Filme de baixa permeabilidade ao oxigênio

A MS das silagens analisadas não apresentou diferenças numéricas quando levadas em consideração às suas diferentes coberturas. No entanto, nota-se um teor baixo de MS na silagem de milho do silo 2 (25,52 e 25,15%) quando comparado à planta inteira na ensilagem, decorrente de um processo inadequado de conservação devido a demora ocorrida durante o enchimento e vedação do silo. Durante esse tempo, houve exposição da massa ao oxigênio, ocorrendo o processo de respiração (principalmente nas camadas mais expostas), aumento de temperatura e conseqüentemente perdas de nutrientes devido a estes fenômenos (SIQUEIRA et al., 2005). A boa preservação da silagem depende do rápido estabelecimento e manutenção da anaerobiose obtida pelo rápido enchimento do silo e a sua correta vedação (SENGER et al., 2005; SILVA et al., 2005).

Os teores de proteína bruta nas silagens dos híbridos DKB 466 e AG 1051 são semelhantes. Nota-se apenas um ligeiro aumento nos valores das amostras cobertas com o FBP, com 7,7% no silo 1 (Tabela 3) e 7,47% no silo 2 (Tabela 4). Estes valores de proteína das silagens são próximos aos 7,3 e 7,1% relatados por LEMPP (1986) e PEREIRA (1991) e semelhantes aos obtidos por JONES et al. (1970), que testaram o valor nutritivo da silagem de trinta híbridos de milho, encontrando variações nos teores de proteína de 4,35% a 9,01%. Valores estes dentro do esperado, uma vez que, na silagem de milho, ocorre uma variação na proteína, normalmente entre 6 e 9%.

Os valores de FDN na silagem do silo 1 foram de 47,90% e 48,49% e na silagem do silo 2, os valores foram de 47,34% e 46,31% nos lados cobertos com o FC e do FBP, respectivamente. Observa-se neste estudo que as porcentagens de FDN dos híbridos na forragem antes de ser ensilada (Tabela 1) foram praticamente iguais às de

sua silagem (Tabela 3), o que se deve, provavelmente, a manutenção dos constituintes da parede celular. A fibra em detergente neutro, indica quantidade de fibra que há no volumoso, quanto menor o seu valor, melhor será a silagem e maior será o consumo de matéria seca.

Com relação ao FDA, os valores estão entre 26,42 e 25,03% nas silagens do silo 1, enquanto que no silo 2 observou-se 21,42 e 21,44%, ambos pares de valores referem-se às amostras localizadas no lado coberto com o FC e o FBP, respectivamente.

Verificou-se que os valores de CNF foram próximos nas silagens nos dois estudos, com 41,12 e 40,20% para o silo 1 e 40,85 e 41,70% para o silo 2 nas amostras dispostas no FC e o FBP, respectivamente. Apresentando valores de carboidratos solúveis residuais elevados, criando-se condições favoráveis para atuação de microrganismos aeróbicos indesejáveis, como ocorre com as leveduras. Esses resultados são semelhantes ao relatado por ZAGO (2002) com 41 % e superiores aos 32,98 e 36,52% relatados por MELLO et al. (2004b) que avaliou o potencial produtivo e qualitativo de híbridos de milho para produção de silagens.

O pH da silagem de silo 1 (Tabela 3) teve valores em torno de 3,88 para as amostras cobertas com o filme convencional (FC) e 3,69 para as amostras cobertas com o filme de baixa permeabilidade (FBP). Evidenciando um padrão de fermentação adequado, característico de silagens bem conservadas (McDONALD et al., 1991).

Quanto aos valores de pH da silagem do silo 2 (Tabela 4) de 5,70 no lado do FC e 5,47 no lado do FBP, pode-se considerar elevados devidos aos problemas relacionados ao manejo que ocorreram tanto na confecção do silo com tempo de

enchimento demorado por motivo de mau tempo no momento da ensilagem assim como pelo desabastecimento inadequado. Estes valores de pH são semelhantes aos 5,87 encontrados por BORREANI et al., 2007, o que se deve, provavelmente, ao severo estado de deterioração das silagens de milho que possui como indicativo valores na faixa de 4,8 e 8,5 conforme relatado por ASHBELL & WEINBERG (1992) e BERGER & BOLSEN (2006).

Com relação ao nitrogênio amoniacal, em porcentagem do nitrogênio total, os maiores valores foram observados no silo 2 com 11,87% para o filme convencional (FC) e 11,36% para o filme de baixa permeabilidade ao oxigênio (FBP). Enquanto que no silo 1 os valores estão entre 7,13 e 8,22 para o FC e o FBP, respectivamente.

O fato da ensilagem ter sido prolongada pode ter levado a uma lenta e insuficiente acidificação do meio pela excessiva aquosidade da forragem durante a ensilagem e levado ao aumento da produção de ácido acético (4,62 e 4,25 %MS), provavelmente pela atuação dos *Bacillus* e *Coliformes* na silagem do silo 2. Segundo FERREIRA (2001), silagens que tiveram fermentação adequada apresentam níveis de ácido acético menor que 2,0% da MS enquanto que valores elevados indicam alterações indesejáveis durante o processo de ensilagem (MAHANNA, 1993). BERNARDES (2005), avaliando o filme de baixa permeabilidade ao oxigênio em silagens de milho encontrou valores de ácido acético de 1,1 a 1,9 (%MS), considerados reduzidos e característicos de silagens de boa qualidade.

Na Figura 1 pode-se avaliar o perfil de estabilidade dos dois híbridos cobertos com os dois tipos de filme nas diferentes datas de amostragem. Vale destacar que os silos foram abertos em períodos distintos, com isso deve-se considerar a seguinte

identificação: 1 = 09/06/2006 e 19/07/2006; 2 = 22/06/2006 e 07/08/2006; 3 = 03/07/2006 e 25/08/2008, sendo que primeira data corresponde ao dia de remoção dos sacos no silo1 e a segunda ao dia de remoção dos sacos no silo 2.

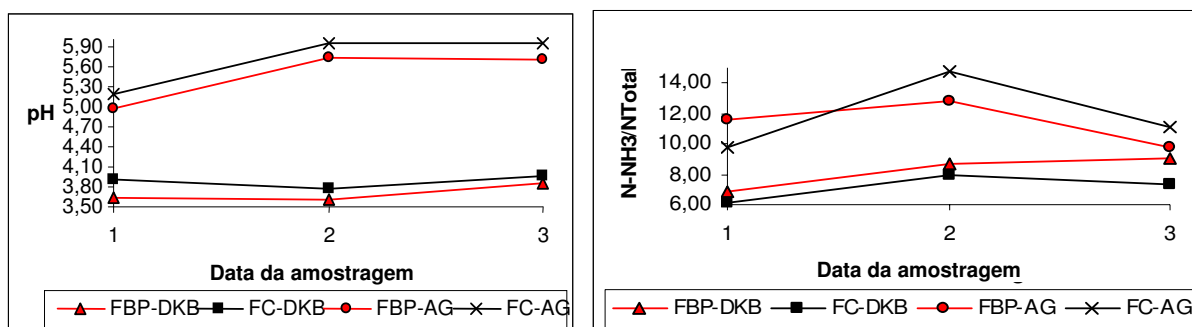


Figura1. Valores de pH e N-NH3/NTotal das silagens dos híbridos (DKB e AG) cobertos com filme de baixa permeabilidade (FBP) e convencional (FC), nas datas de amostragem (1 = 09/06/2006 e 19/07/2006; 2 = 22/06/2006 e 07/08/2006; 3 = 03/07/2006 e 25/08/2008).

Analisando-se o pH e N-NH3%/NT das silagens (Figura 1), nota-se que entre os silos, a amplitude de variação foi pequena. Encontram-se dentro da faixa normal indicada pela literatura apenas a silagem de milho do silo 1, pH menor que 4,4 (VAN SOEST, 1994) e N-NH3%/NT menor que 10 % (McDONALD et al., 1991). Fato que se deve ao manejo adequado do processo de ensilagem. No entanto, a silagem de milho do híbrido 2 pode ser considerada deteriorada, pois apresentou valor de pH elevado, resultante do consumo de ácidos orgânicos pelos microrganismos aeróbios e menor teor de MS (Tabela 4) quando comparada à sua composição na planta inteira. De acordo com BENACHIO (1965), quanto ao teor de nitrogênio amoniacal (% do nitrogênio total), as silagens são classificadas em muito boa, quando os valores são inferiores a 10%; aceitável, quando se mantêm entre 10 e 15%; e insatisfatória, quando

acima de 20%. De acordo com esse parâmetro, a silagem de milho do silo 2 pode ser classificada apenas como de qualidade aceitável.

Com isso, o manejo de retirada deficiente com avanço diário de retirada da silagem de 0,23 cm, muito próximo do limite de 0,20 cm e tendo em vista as demais características, pode-se afirmar que o material sofreu deterioração aeróbia e pode repercutir negativamente sobre o desempenho produtivo dos animais alimentados com essa silagem. Um outro indicativo desse processo refere-se ao maior desenvolvimento de fungos filamentosos e de leveduras no pós-abertura do silo 2 (Tabela 4). Segundo MUCK (2004), quando o número de leveduras ultrapassa 5,0 ufc/g, a silagem pode se tornar menos estável em condições de aerobiose.

No que se diz respeito à silagem de milho do silo 1, observou-se menores populações de fungos e de leveduras (Tabela 3) e pode ser considerada de melhor qualidade quando comparada com a silagem de milho do silo 2. Nota-se um efeito positivo do filme de baixa permeabilidade no controle de fungos e leveduras em ambos os casos, especialmente na forragem devidamente ensilada e com manejo de retirada mais adequado. BORREANI et al. (2007), em um estudo sobre a utilização do filme de baixa permeabilidade ao oxigênio em silagens de milho, observou efeito positivo da utilização do mesmo visto a redução na contagem de fungos com valores de 1,55 e 5,07 (UFC/g) para as silagens cobertas com o filme de baixa permeabilidade e com o filme convencional, respectivamente.

As perdas de MS no silo 1 foram de 7,7% nas amostras cobertas com FC e 6,2% nas amostras cobertas com o FBP. Essa diferença positiva ao FBP, apesar de sutil, pode ser explicada possivelmente pela sua maior permeabilidade ao oxigênio aliado ao

fechamento adequado do silo assim como sua utilização e remoção (BERNARDES, 2007). O mesmo não é observado no silo 2 que apresentou maiores perdas no FBP (9,3%), enquanto que o FC teve perdas de MS de 6,8%, fato esse devido ao manejo de confecção e retirada já mencionados no texto.

4. CONCLUSÕES

O valor médio de nutrientes, de modo geral, não foi afetado pelos fatores estudados (diferentes coberturas) e as perdas foram ligeiramente inferiores quando a implantação da nova tecnologia obedeceu as premissas para um processo de fermentação adequado.

O filme de baixa permeabilidade ao oxigênio reduz a ocorrência de leveduras e de fungos quando é imposto ao silo um avanço satisfatório da massa de silagem durante o desabastecimento, o que poderia melhorar a qualidade sanitária da mesma.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA FILHO, S.L.; FONSECA, D.M.; GARCIA, R. et al. Características agronômicas de cultivares de milho (*Zea mays* L.) e qualidade dos componentes e da silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.28, n.1, p.7-13, 1999.

ASHBELL, G., KASHANCI, Y. Silo losses from wheat ensiled in bunker silos in a subtropical climate. ***Journal of the Science of Food and Agriculture***, v. 40, p. 95-98, 1987.

ASHBELL, G., LISKER, N. Aerobic deterioration in maize silage stored in a bunker silo under farm conditions in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.45, p. 307-315, 1988.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G. Top silage losses in horizontal silos. **Canadian Agricultural Engineering**, v. 34, p.171–175, 1992.

BENACHIO, S. Niveles de melaza en silo experimental de milho crioulo (*Sorghum vulgare*). **Agronomia Tropical**, v.14, n.4, p.651-658, 1965.

BERNARDES, T. F. **Controle da deterioração aeróbia de silagens**. 2006. 103f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

BERGER, L. L.; BOLSEN, K. K. Sealing strategies for bunker silos and drive-over piles. Online. http://www.oznet.kstate.edu/pr_silage/publications/NRAES%20Berger%20&%20Bolsen%20Sealing%20Strategies%204-14-06.pdf Acessado 10 Jun 2007, 2006.

BOLSEN, K. K.; DICKERSON, J. T.; BRENT, B. E. et al. Rate and extent of top spoilage in horizontal silos. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 2940-2962, 1993.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; ANTONIAZZI, S.; CAVALLARIN, L. Zearalenone contamination in farm maize silage. Ital. **Journal of Animal Science**, v.4, p.162–165, 2005.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.10, p.4701-4706, 2007.

DICKERSON, J. T. **Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos**. Dissertation - Doctor of Philosophy, Kansas State University, Manhattan, 138p, 1992..

GARON, D.; RICHARD, E.; SAGE, L.; BOUCHART, V.; POTTIER, D.; LEBAILLY, P. Mycoflora and multimycotoxin detection in corn silage: Experimental study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 54, p.3479–3484, 2006.

HONIG, H. Reducing losses during storage and unloading of silage. In: PAHLOW, G.; HONIG, H. (Eds). **Forage conservation towards 2000**. 1. ed. Braunschweig: European Grassland Federayion, p. 116-128, 1991.

IVANEK, R.; GRÖHN, Y.; WIEDMANN, M. *Listeria monocytogenes* in multiple habitats and host populations: Review of available data for mathematical modeling. **Foodborne Pathog. Dis.**, v.3, p.319–336, 2006.

JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D. Microbiologia de forragens conservadas. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R.; MOREIRA, A.L. (Ed.) **Volumosos na produção de ruminantes: Valor alimentício de forragens**. Jaboticabal: Funep, 2003, p.1-26.

JONES, D. I. H. Laboratory studies on grass composition and quality of vacuum preserved silage. **Journal Agriculture Science**, Cambridge, v.6, n.3, p.522- 526, July 1970.

KUNG Jr, L. Preparation of silage water extracts of chemical analyses. **Standard operating procedure** – 001 2.03.96 ed. University of Delaware – Ruminant Nutrition Lab. – Worrilow 309, 1996.

KUNG Jr, L.; SHEPERD, A. C.; SMAGALA, A. M.; ENDRES, K. M.; BESSETT, C. A. ; RANJIT, N. K.; GLANCEY, J. L. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1322–1330, 1998.

LEMPP, B. **Avaliação do valor nutritivo da silagem de milho e dos fenos de capim-colômbio e capim-jaraguá para vacas em lactação.** Viçosa, MG: UFV, 1986. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1986.

MAGALHÃES, V.J.A. **Efeito da inoculação microbiana da silagem pré-secada de alfafa sobre a fermentação no silo, digestibilidade e desempenho produtivo de vacas leiteiras.** 106f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2002.

MAHANNA, B. Troubleshooting silages problems. In: STATE APPLIED NUTRITION CONFERENCE, 4., 1993, West Des Moines. **Summary...** West Des Moines: Pioneer Hybrid International Inc., 1993. p.1-21

MCDONALD, P.; HERDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage.** 2.ed. Marlow: Chalcomb Publications, 1991. 340p.

MELLO, R.; NÖRNBERG, J.L. Fracionamento dos carboidratos e proteínas de silagens de milho, sorgo e girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.75, p.1537-1542, 2004a.

MELLO, R.; NÖRNBERG, J.L.; ROCHA, M.G. Potencial produtivo e qualitativo de híbridos de milho, sorgo e girassol para ensilagem. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n.1, p.87-95, 2004b.

MUCK, R.E. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. **Transactions of the ASAE**, v.47, p.1011-1016, 2004.

NUSSIO, L.G.; MANZANO, R.P. Silagem de milho. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS: Alimentação suplementar, 7. Piracicaba, 1999. **Anais...** Piracicaba, FEALQ, 1999. p.7-46.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Microbiology of ensiling In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p.31-94.

PEREIRA, O.P. **Produtividade do milho (*Zea Mays* L.), do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), da aveia (*Avena sativa*), do milheto (*Pennisetum americanum* L.) e do híbrido (*S. bicolor* X *S. sudanense*) e respectivos valores nutritivos sob a forma de silagem e verde picado**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 86p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1991.

PRESTON, T.R. Analytical methods for characterizing In: **Feed resources for ruminants: better utilization of crop residues and by products in animal feeding: research guidelines. 2 A practical manual for research workers**. Rome: FAO, 1986, p. 106.

RODRIGUES, P.H.M. et al. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.538-545, 2004

SENGER, C.C.D. et al. Composição e digestibilidade 'in vitro' de silagens de milho com distintos teores de umidade e níveis de compactação. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1393-1399, 2005.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

SILVA, A.V. et al. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1881-1890, 2005.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J., D., Van SOEST, P.J., FOX, D.G., RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3562-3577, 1992.

SPECK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 701p. 1976.

TREVISI, E.; BANI, P.; BERTONI, D G. Effect of use of maize-silage with low aerobic stability on performance of lactating dairy cows. **Vet. Rec.** v.27, n. 1, p.273–275, 2003.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. **Nutritional ecology of the ruminant** 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

WEIMER, P.J.; LOPEZ-GUISA, J.M.; FRENCH, A.D. Effect of cellulose fine structure on kinetics of its digestion by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.56, n.8, 1990. p.2421-2429.

WILKINSON, J. M. Silage and animal health. **Natural Toxins**, v.7, p.221–232, 1999.

WILSON, R. K. A rapid accurate method for measuring volatile fatty acids and lactic acid in silage. Research Report, Agricultural Institute, Dunsinea Research Center. Dublin, Ireland, 7p. 1971.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effect of air on silage. **Journal of applied bacteriology**, Oxford, v.68, p.101–116, 1990.

ZAGO, C. P Híbridos de milho e sorgo para silagem: características agronômicas e nutricionais. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 1., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, p. 351-372, 2002.

ZANINETTI, R.A. **Valor nutritivo e características fermentativas de silagens de híbridos de milho e sorgo**. 2007 27f. Relatório Final (Pibic) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.