



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA- UFRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA
AMAZÔNIA**

ROSANA INGRID RIBEIRO DOS SANTOS

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AERÓBIA E TEMPO DE ARMAZENAMENTO EM
SILAGENS DE MILHO REALOCADAS**

**BELÉM
2018**

ROSANA INGRID RIBEIRO DOS SANTOS

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AERÓBIA E TEMPO DE ARMAZENAMENTO EM
SILAGENS DE MILHO REALOCADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia, para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Aníbal Coutinho do Rêgo.

Co-orientadores: Prof. Dr. Felipe Nogueira Domingues;

Prof. Dr. Wilton Ladeira da Silva.

**BELÉM
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação (CIP) Bibliotecas da Universidade
Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237e Santos, Rosana Ingrid Ribeiro dos
Efeitos da exposição aeróbia e tempo de armazenamento em silagens de milho
realocadas / Rosana Ingrid Ribeiro dos Santos. - 2018.
50 f.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia) - Programa de Pós-
graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Campus Universitário de Belém,
Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Aníbal Coutinho do Rêgo.

Coorientação: Prof. Dr. Felipe Nogueira Domingues.

Coorientação: Prof. Dr. Wilton Ladeira da Silva.

1. Silagens de milho - características fermentativas. 2. Silagens de milho - exposição aeróbia. 3. Silagens de milho - ácidos orgânicos. Silagens de milho - transporte. I. Rêgo, Aníbal Coutinho do, *orient.* II. Domingues, Felipe Nogueira, *coorient.* III. Silva, Wilton Ladeira da, *coorient.* IV. Título.

CDD: 636.0862

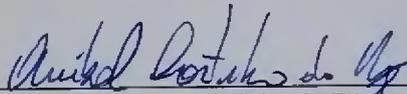
ROSANA INGRID RIBEIRO DOS SANTOS

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AERÓBIA E TEMPO DE ARMAZENAMENTO EM
SILAGENS DE MILHO REALOCADAS**

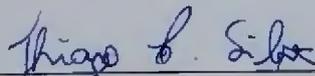
Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia, para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em 27 de fevereiro de 2018

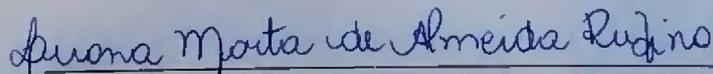
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Aníbal Coutinho do Rêgo - Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA



Prof. Dr. Thiago Carvalho da Silva - 1º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA



Prof.^a Dr.^a Luana Marta de Almeida Rufino - 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ - UFPA



Prof. Dr. Cristian Faturi - 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar fé e discernimento para continuar o trabalho que sonhei desde quando entrei na graduação, e decidi que gostaria de ser educadora. E por intercessão dele, agradeço a nossa senhora de Nazaré, minha mãe que me acolhe nos momentos de angústia e incertezas, e que nunca me deixou desistir, por maiores que fossem os obstáculos.

À paróquia São Jorge, incluindo toda a equipe da pastoral litúrgica e membros frequentadores. Essa equipe foi fundamental para que eu não perdesse o sentido de viver e acreditar que Deus nos deu o dom da vida, e não podemos fraquejar na primeira dificuldade. A pastoral litúrgica me fez caminhar de novo próximo a Deus, e me fortalecer nessa jornada da pós-graduação.

Aos meus pais, Rosa Maria Ribeiro Pedro e Raimundo Osmar dos Santos, por não deixarem de acreditar que eu seria capaz de concluir essa missão. Foram fundamentais em todo o processo, nunca esquecerei das caronas de meu pai, bem cedo, para os experimentos na universidade, e a disponibilidade da minha mãe em levar almoço e café. Não há nessa terra, alguém que se assemelhe ou que faça igual ao que fizeram por mim. Aguentei tudo, por vocês e para vocês.

À família Ribeiro, pelos incentivos durante esse processo, sempre que ia ao interior visitar todos, meu coração e mente se enchiam de gás para voltar e continuar meu trabalho. Quero crescer para orgulhar vocês.

Ao curso de Zootecnia da Universidade Federal Rural da Amazônia, onde incluem-se os professores, alunos e amigos, com os quais pude conviver e exercer minha primeira experiência como aprendiz de educadora, durante a realização do estágio em docência, a melhor experiência que pude ter durante a realização desse mestrado.

Ao Grupo de Estudos em Ruminantes e Forragicultura da Amazônia- GERFAM por fornecer o suporte para realizar os experimentos e ter uma rotina de convivência em equipe, o que fortaleceu a caminhada. Em especial, agradeço à equipe de conservação de forragem (Marcus Cardoso, Wânia Mendonça, Amanda Queiroz (coruji), Claudia Márcia e Rita Mendonça) que me ajudaram a engatinhar desde o início do processo em que conheci os trabalhos com silagem. E aos que chegaram depois (Camilo Cruz, Larissa Lourenço e Daniel) pela amizade e cumplicidade que continuará no doutorado. E por último, não menos importante, a minha amiga pós doc Elizabeth Santos, pelas palavras amigas e loucuras compartilhadas.

Agradeço às minhas amigas, que ganhei após ingressar na pós-graduação (Anaís Favero, Thialla Costa, Sandra Souza) e a que fortaleci mais ainda depois da graduação (Bianca Barreto), por me fazerem criar um vínculo tão bonito e verdadeiro, com pessoas tão incríveis. Que nossa amizade dure anos e que consigamos realizar nossos sonhos.

Ao grupo top dos futuros zootecnistas da UFRA Belém (Ju Pitirini, Weend Grande, Andreza Santos, Andrey Miranda e Cristian Queiroz) pelos “altos” papos durante o almoço e por deixarem meu dia a dia mais leve com as loucuras de vocês.

Ao professor Aníbal Coutinho do Rêgo pelo apoio desde o início, quando manifestei a vontade de tentar o mestrado, até a aprovação e início de tudo. Suas revisões incisivas no trabalho foram extremamente importantes e necessárias para o meu crescimento como acadêmica.

Ao professor Thiago Carvalho, que com seu entusiasmo pela pesquisa, tornou-se um incentivador de fazer as coisas acontecerem. Obrigada por ser entusiasta do “podemos fazer melhor”, “vamos em frente”, “vamos conseguir”.

Ao secretário do programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Jaime Santos, por sempre me receber com um sorriso no rosto, desde o primeiro dia que pisei na secretaria da pós, para entregar os documentos da seleção. Obrigada por tudo Jaime.

À Tia Maria e Marluce, que sempre me receberam com um sorriso largo quando eu chegava para almoçar e reservar minha comida, e que sempre torceram pelas minhas conquistas.

À Fazenda Água parada, em especial ao gerente Fabiano de Freitas, pela disponibilidade em ceder a fazenda para que pudéssemos ensilar o milho e construir o experimento. Sem essa parceria, o presente trabalho não teria se concretizado.

À Shirley Motta, pelo apoio com as análises de FDN e FDA, muito obrigada pelo socorro, e pelas belas palavras de apoio.

Ao laboratório de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-USP (ESALQ-LAB) em especial a Laerte Cassoli, pela disponibilidade em realizar as análises de ácidos orgânicos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa.

A todos que de alguma forma esqueci no texto, mas que estiveram junto a mim nessa caminhada, diretamente ou indiretamente.

Obrigada!

RESUMO

Algumas fazendas não possuem equipamentos para produção de silagem e necessitam comprar forragem ensilada previamente, em outras propriedades. Nesse processo, a silagem é frequentemente movida para um novo silo o que expõe a massa ao oxigênio. Quando a massa é exposta ao ar, as silagens ficam propensas a deterioração por ação de microrganismos oportunistas com posterior redução do valor nutritivo. Nesse contexto, é importante conhecer o que ocorre quando a silagem é realocada para outro silo. O objetivo do estudo foi determinar o efeito do tempo de realocação (TR; Artigo 1) e tempo de armazenamento (TA; Artigo 2) na microbiologia, características fermentativas, estabilidade aeróbia e composição química de silagem de milho. No Artigo 1, a silagem de milho foi armazenada por 30 dias e exposta ao ar de 0 a 60h (tempos de realocação), e após essa exposição, realocada para o silo para mais 30 dias de armazenamento. Trinta silos experimentais foram utilizados em um delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento. No Artigo 2, 150 dias após a ensilagem, a silagem foi removida de um silo do tipo trincheira e exposta ao ar por nove horas, e posteriormente realocada para silos experimentais e armazenada em diferentes períodos (0 a 128 dias). Vinte e sete silos experimentais foram usados em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. A exposição de silagem de milho ao ar até 60 horas de realocação, seguidas de 30 dias de armazenamento anaeróbio, não comprometeu o perfil fermentativo e valor nutritivo da silagem. As perdas de matéria seca e carboidratos não fibrosos aumentou quando a silagem permaneceu armazenada por tempos superiores a 32 dias após a realocação. Silagens realocadas aumentam a estabilidade aeróbia quando expostas ao ar durante a realocação, mas isso foi mais pronunciado durante o armazenamento prolongado após TR. O tempo de armazenamento, apresentou maior impacto nas perdas de nutrientes de silagens realocadas do que o tempo de realocação.

Palavras-chave: ácidos orgânicos, exposição aeróbia, fermentação, transporte de silagem

ABSTRACT

Some farms do not have the equipment to produce their own silage and thus are forced to purchase previously ensiled forage for use on their farms. In this process, silage is often moved to a new bunker silo on a different farm which exposes the forage mass to air. When exposed to air, silages have the propensity to spoil resulting in reduced nutritive value. In this context, it is important to study what happens to this silage after its relocation to new silos. The objective of this study was to determine the effects of relocation time (RT; Experiment 1) and storage time (ST; Experiment 2) on the fungi population, fermentative characteristics, aerobic stability, and chemical composition of corn silage. In Experiment 1, corn silage was stored for 30 days and exposed to increasing periods of time exposed to air (relocation times) before ensiling again for 30 days. Thirty experimental silos were used in a completely randomized design with three replicates per treatment. In Experiment 2, after 150 days of ensiling, silage was removed from a bunker silo exposed to air for 9 h and relocated to experimental silos and stored thereafter for periods ranging from 0 to 128 days. Twenty-seven experimental silos were used in a completely randomized design, with four replicates per treatment. Exposure of corn silage to air during relocation for up to 60 h followed by 30 days of storage, did not compromise the fermentation profile nor the nutritive value of the silage. The losses of dry matter (DM) and non-fiber carbohydrates (NFC) increased in corn silage stored for periods longer than 32 days after relocation. Relocated silages showed greater aerobic stability when exposed to the air during relocation and this was more pronounced, during prolonged storage periods. The quality of relocated silage depends mainly on its composition at the time of relocation. The results of the present study show that the storage period has more impact on nutrient losses in relocated silage than the relocation period does.

Key words: aerobic exposure, fermentation, organic acids, silage transportation

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL	Ácido láctico
AA	Ácido acético
AP	Ácido propiônico
AMP	Amplitude
CSA	Carboidratos solúveis em água
CNF	Carboidratos não fibrosos
DIVMS	Digestibilidade in vitro da matéria seca
EA	Tempo em estabilidade aeróbia
EE	Extrato etéreo
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
HmaxT	Tempo em horas para atingir a temperatura máxima
LEV	Leveduras
MS	Matéria seca
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
PB	Proteína bruta
pH-7d	pH mensurado após sete dias de exposição aeróbia
pH-12d	pH mensurado após doze dias de exposição aeróbia
TA	Tempo de armazenamento
TI	Temperatura inicial
TF	Temperatura final
TR	Tempo de realocação
TMax	Temperatura máxima

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Composição química (g/kg da MS) e temperatura (°C) das silagens antes da realocação, bem como da planta inteira de milho, e pH das pilhas de silagens de milho antes da realocação.....30

Tabela 2. Composição microbiológica (log₁₀ ufc/g), Estabilidade aeróbia (h) e produtos da fermentação (g/kg da MS), de silagens de milho, após 30 dias da realocação.....31

Tabela 3. Composição química (g/kg da MS) de silagens de milho, após 30 dias da realocação.....31

Tabela 4. Balanço (g/kg) e recuperação (%) de nutrientes, de silagens de milho, após 30 dias da realocação.....32

Capítulo 2

Tabela 5. Composição microbiológica (log₁₀ ufc/g), Estabilidade aeróbia (h) e produtos da fermentação (g/kg da MS), de silagens de milho, armazenadas em diferentes tempos após a realocação.....49

Tabela 6. Composição química (g/kg da MS) de silagens de milho armazenadas em diferentes tempos após a realocação.....49

Tabela 7. Balanço (g/kg) e recuperação (%) de nutrientes, de silagens de milho, armazenadas em diferentes tempos após a realocação.....50

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO	10
REFERÊNCIAS	12
2 Artigo 1. Efeito do tempo de realocação sobre a qualidade de silagens de milho	13
RESUMO	13
ABSTRACT	15
2.1 INTRODUÇÃO	16
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	17
2.2.1 Informações gerais	17
2.2.2 Procedimentos experimentais e delineamento experimental	18
2.2.3 Avaliação da estabilidade aeróbia	18
2.2.4 Perdas de matéria seca e balanço de nutrientes	19
2.2.5 População microbiana e perfil fermentativo	19
2.2.6 Composição química	20
2.2.7 Análise estatística	21
2.3 RESULTADOS	22
2.4 DISCUSSÃO	23
2.5 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	27
3 Artigo 2. Como o tempo de armazenamento afeta os produtos da fermentação e valor nutritivo de silagens de milho realocadas?	33
RESUMO	33
ABSTRACT	35
3.1 INTRODUÇÃO	36
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.2.1 Informações gerais	37
3.2.2 Procedimentos experimentais e delineamento experimental	37
3.2.3 Avaliação da estabilidade aeróbia	38
3.2.4 Perdas de matéria seca e balanço de nutrientes	38
3.2.5 População microbiana e perfil fermentativo	38
3.2.6 Composição química	39
3.2.7 Análise estatística	41
3.3 RESULTADOS	41
3.4 DISCUSSÃO	43
3.5 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A realocação de silagem consiste em mover a silagem de um local para outro com diversas finalidades. O produtor pode ensilar um material em silos de grande capacidade próximos à área de cultivo, e na época de alimentação dos animais, realocar a silagem para silos menores, mais próximos do centro de manejo da fazenda (CHEN; WEINBERG, 2014). Além disso, a falta de planejamento alimentar e o comprometimento da lavoura por eventos climáticos ou pragas e doenças, fazem com que os produtores comprem silagem de outras fazendas, (MICHEL et al., 2016).

A comercialização de silagens no Brasil, é mais frequente pelas variações climáticas e pela ausência de maquinário e mão de obra qualificada ao processo de ensilagem (DOS ANJOS et al., 2018). Além disso, existem outras razões para comercialização de silagem realocada, como a alimentação de animais em feiras de exposição e em navios de transporte de animais vivos, situações as quais a compra de alimento volumoso é necessária.

A realocação envolve o desabastecimento, transporte, re-compactação e vedação do novo silo (CHEN; WEINBERG, 2014). Esses procedimentos podem demorar horas ou até dias para serem concluídos, fazendo com que a silagem seja exposta ao ar durante a realocação (CHEN; WEINBERG, 2014). Apesar de ser uma prática comum dentre os produtores de leite em diversos países, apenas poucos estudos foram realizados sobre realocação, com silagens de milho, trigo e sorgo. No estudo de, de Lima et al. (2016) observou-se que realocação de até 48 horas, não afetou a composição química e produtos da fermentação da silagem de milho. Alguns efeitos pontuais foram observados como diminuição na digestibilidade in vitro da matéria seca, para silagens de milho e trigo realocadas até 48h (CHEN; WEINBERG, 2014). A realocação da silagem de sorgo por 12 h resultou em aumento na produção de efluentes e redução na concentração de ácido láctico, propiônico e nitrogênio amoniacal (DOS ANJOS et al., 2018). Ao serem realocadas por 24 h, foi observada redução na digestibilidade in vitro da matéria seca e aumento da estabilidade em aerobiose (MICHEL et al., 2016). As perdas de matéria seca não apresentaram alteração em nenhum dos estudos citados.

Diante disso, é necessária a realização de novos estudos para melhor compreender as alterações após a realocação de silagens, incluindo tempos de exposição superiores a 48 h, pelo fato de que em algumas situações, a operação de realocação pode se prolongar no campo, por problemas de quebra de maquinário, longas distâncias, intempéries

climáticas e falta de mão de obra disponível. Além disso, as alterações que ocorrem após o armazenamento da silagem realocada podem ter maior impacto sobre a qualidade da silagem, entretanto não foram avaliadas nas poucas pesquisas realizadas. Essas alterações são de grande importância para os produtores e consultores, principalmente para formular as dietas adequadamente.

Dentre as culturas utilizadas para produção de silagem, o milho é a mais utilizada nas fazendas leiteiras do Brasil (BERNARDES; DO RÊGO, 2014) e apresenta elevada susceptibilidade à deterioração aeróbia, especialmente em regiões tropicais (BERNARDES et al., 2009; KUNG et al., 2018). Além disso, a maioria das silagens realocadas no Brasil são desta cultura, segundo informações de consultores e fazendeiros.

Assim, hipotetizamos que o tempo prolongado de realocação e o período de armazenamento aumentam as perdas de nutrientes e alteram a composição química de silagens de milho realocadas. Dois experimentos foram conduzidos com o objetivo de avaliar os efeitos do tempo de realocação (Artigo 1) e do tempo de armazenamento (Artigo 2) sobre o perfil fermentativo e o valor nutritivo de silagens de milho realocadas.

REFERÊNCIAS

BERNARDES, T. F.; REIS, R. A.; AMARAL, R. C. DO. Chemical and microbiological changes and aerobic stability of marandú grass silages after silo opening. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1-8, 2009.

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

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

DE LIMA, E. M.; GONÇALVES, L. C.; KELLER, K. M.; RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. P. C.; MICHEL, P. H. F.; RAPOSO, V. S.; JAYME, D. G. Re-ensiling and its effects on chemical composition, in vitro digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure to air. **Canadian Animal Science**, v. 97, p. 250-257, 2016.

DOS ANJOS, G. V. S.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; COELHO M. M., MICHEL, P. H. F.; OTTONI, D., JAYME, D. G. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p.1-8, 2018.

MICHEL, P. H. F.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; RAPOSO, V. S.; LIMA, E. M.; SANTOS, F. P. C.; JAYME, D. G. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionobacterium acidipropionic* on sorghum silages. **Grass and Forage Science**, v. 72, p.432-440, 2016.

KUNG JR, L., SMITH, M. L., DA SILVA, B. E., WINDLE, M. C., DA SILVA, T. C., POLUKIS, S. A. An evaluation of the effectiveness of a chemical additive based on sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**. v. 101, p.5949-5960, 2018.

1 RELOCATION AFFECTS THE QUALITY OF CORN SILAGE

2 **2 Artigo 1. Efeito do tempo de realocação sobre a qualidade de silagens de milho¹**3 **R. I. R. dos Santos,* R. C. A. Mendonça,* T. F. Bernardes,† C. Faturi,* T. C. da**4 **Silva,* F. N. Domingues,* A. C. do Rêgo,***5
6 *Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia,

7 Belém, Pará, 66077-830, Brasil

8 †Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 37200-000,

9 Brasil

10 **RESUMO**

11 A realocação de silagem é uma prática comum em fazendas, que consiste em mover a
12 silagem para um novo silo com diferentes propósitos. Durante a operação de realocação,
13 as silagens são inevitavelmente expostas ao ar por várias horas, o que pode ocasionar
14 perdas de nutrientes pela proliferação de microrganismos indesejáveis e diminuição da
15 qualidade da silagem. Diante disso, objetivou-se determinar os efeitos do tempo de
16 realocação sobre a microbiologia, características fermentativas, estabilidade aeróbia e
17 composição química de silagens de milho. O milho foi colhido com teor de 32,5% de
18 matéria seca. Foram ensilados 30 silos experimentais em delineamento inteiramente
19 casualizado com três repetições. Decorridos 30 dias da ensilagem, os silos foram abertos
20 e expostos ao ar na forma de pilhas por 0 a 60 horas. Após a exposição, as silagens
21 foram realocadas para os mesmos silos e aguardaram-se mais 30 dias para posterior
22 abertura. A exposição de silagem de milho ao ar durante a realocação por 60h, seguido
23 de 30 dias de armazenamento anaeróbio, não comprometeu o perfil fermentativo e valor
24 nutritivo da silagem realocada, sendo o número de leveduras e mofos reduzido nas
25 silagens. O teor de matéria seca aumentou em função do tempo de realocação, devido a
26 exposição aeróbia durante a realocação.

27 **Palavras-chave:** exposição aeróbia, fermentação, ácidos orgânicos, transporte de
28 silagem

29

30 ¹ Capítulo nas normas da revista Journal of Dairy Science

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60

ABSTRACT

61
62 The relocation of silage is a common practice among farms and it consists on moving
63 the silage to a new silo for different purposes. During the relocation operation, silages
64 are inevitably exposed to air for several hours, which can lead to nutrient losses due to
65 the proliferation of undesirable microorganisms and a decrease in silage quality. The
66 objective of this study was to determine the effects of relocation time on the
67 microbiology, fermentative characteristics, aerobic stability, and chemical composition
68 of corn silage. Corn was harvested with 32.5% dry matter content. Thirty experimental
69 silos were used in a completely randomized design with three replicates per treatment.
70 After 30 days of silage, the silos were opened and exposed to air in the form of piles for
71 0 to 60 hours. After the aerobic exposure, the silages were relocated to the same silos
72 and waited another 30 days for later opening. Exposure of corn silage to air during
73 relocation for up to 60 h, followed by 30 days of anaerobic storage, did not compromise
74 the fermentative profile and nutritive value of the relocated silage in the current study
75 because numbers of yeasts were extremely low in the original silage. However, the dry
76 matter content increases as a function of the time of relocation due to the aerobic
77 exposure during the relocation process.

78 **Key words:** aerobic exposure, fermentation, organic acids, silage transportation

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

2.1 INTRODUÇÃO

91

92 A falta de orçamentação forrageira, agravada principalmente por variações
93 climáticas durante o ano, são fatores que colaboram com a comercialização de silagens,
94 normalmente na forma realocada. Por ser uma das culturas mais utilizada nos sistemas
95 de produção animal, a planta inteira de milho conservada na forma de silagem
96 (Bernardes e do Rêgo, 2014) tem ganhado destaque no mercado de venda de volumosos.

97

O processo de realocação, ocorre quando a silagem é desabastecida do silo de
98 origem e armazenada em sacos para venda ou outro tipo de silo. Tal manejo, envolve o
99 desabastecimento, compactação e vedação do novo silo, operações que podem variar
100 desde horas ou até mesmo dias (Chen e Weinberg, 2014). Durante esse tempo, a silagem
101 é inevitavelmente exposta ao ar, e em tais condições, os microrganismos antes latentes
102 na ausência de oxigênio, multiplicam-se rapidamente e iniciam a degradação da silagem
103 (Bernardes et al., 2009). Essa fase aeróbia que surge durante a realocação deixam as
104 silagens sujeitas a deterioração aeróbia e podem diminuir a estabilidade das mesmas
105 quando fornecidas aos animais (Ranjit et al., 2000).

106

Geralmente parte dos danos ocasionados pela exposição aeróbia não são
107 quantificados visivelmente no campo. A maioria destes, são devido a oxidação da massa
108 causados por microrganismos que subestimam as reais perdas envolvidas no processo
109 (Bernardes e O'kiely, 2013). Normalmente os primeiros microrganismos a iniciarem o
110 processo de deterioração aeróbia são as leveduras, que utilizam carboidratos solúveis
111 residuais ou ácido láctico, como substrato para se desenvolverem (Spoelstra et al., 1988).
112 Na presença de oxigênio, os carboidratos solúveis e ácido láctico existentes na silagem,
113 são completamente oxidados a CO₂ e água, o que ocasiona aumento do pH e temperatura
114 das silagens, que favorece a sucessão de microrganismos aeróbios, suprimidos
115 anteriormente pelo baixo pH do meio (Rooke e Hatfield, 2003).

116 O sucesso ou fracasso ao mover a silagem de uma estrutura para outra depende do
117 tempo em que ficou exposta ao ar durante a operação de realocação. A exposição aeróbia
118 em tempos crescentes, pode elevar o teor de fibra em detergente neutro e lignina das
119 silagens expostas (Velho et al., 2006). Diante do exposto, objetivou-se determinar o
120 efeito do tempo de exposição aeróbia sobre composição química, digestibilidade in vitro
121 da matéria seca, produtos finais da fermentação, estabilidade aeróbia e contagem de
122 mofos e leveduras em silagens de milho.

123 **2.2 MATERIAL E MÉTODOS**

124 **2.2.1 Informações gerais.** A lavoura de milho foi cultivada em região localizada
125 a 03° 02' 2" de latitude sul, 47° 20' 18" de longitude oeste no município de Paragominas-
126 PA. Segundo a classificação de Köppen o clima da região é o tipo tropical de inverno
127 seco (Aw), caracterizado como clima tropical chuvoso, com expressivo período de
128 estiagem. A média anual da temperatura máxima é de 33 °C e a mínima 22 °C. A
129 umidade relativa apresenta média anual em torno de 81%, sendo elevada durante o ano.
130 A média anual das chuvas é abaixo de 1742,99 mm, sendo abundante de janeiro a maio
131 (Bastos et al., 2006).

132 O híbrido de milho utilizado foi o PIONEER 30F90H®, que foi cultivado com
133 espaçamento entre plantas e linhas de 60cm. Foi colhido a altura de corte de 40 cm do
134 solo por colhedora auto propelida (FX40, New Holland Agriculture, Italia) quando
135 apresentava 32,5% de MS, 96,0% de MO, 7,6% de PB, 49,6 % de FDN e 37,0% de
136 CNF.

137 **2.2.2 Procedimentos experimentais e delineamento experimental.** As silagens
138 foram confeccionadas em silos experimentais (baldes plásticos com capacidade de 15
139 litros), sendo colocados 9 kg de massa de forragem a fim de atingir densidade de 600
140 kg/m³ (com base na matéria natural). Os baldes foram pesados e armazenados em
141 ambiente protegido (temperatura ambiente) após o enchimento. Os silos foram abertos
142 após 30 dias de armazenamento e as silagens destinadas à realocação, foram expostas
143 na forma de pilhas por repetição. Juntamente com os silos experimentais, também foram
144 expostas silagens de outros silos reserva, para completar o volume da massa caso
145 houvesse redução do volume pela perda de água durante a exposição aeróbia. Durante
146 a realocação, foi mensurada a temperatura das pilhas, em dois pontos equidistantes, com
147 auxílio de termômetro inserido na massa. Assim foram determinadas a temperatura
148 inicial **(TI)** das silagens no início da realocação e temperatura final **(TF)** antes das
149 silagens serem realocadas de volta aos silos.

150 Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com dez
151 tratamentos: controle (silagem não exposta), e os tempos de realocação **(TR)** de 0h
152 (silagem foi retirada do silo homogeneizada e imediatamente colocada no silo); 6; 12;
153 18; 24; 30; 36; 42; 48 e 60 horas), com três repetições cada, totalizando 30 unidades
154 experimentais. As silagens perderam água por desidratação da massa durante a
155 exposição aeróbia, reduzindo assim o volume. Por conta disso, mais silagem foi
156 adicionada aos silos experimentais, para completar o volume com objetivo de atingir a
157 densidade de 600 kg/m³. Após esse procedimento, os silos foram armazenados por mais
158 30 dias em local protegido. O tempo total de armazenamento foi de 60 dias.

159 **2.2.3 Avaliação da estabilidade aeróbia.** Para determinação da estabilidade
160 aeróbia foram coletados 1,5 kg de silagem fresca e transferida para baldes plásticos de
161 9 L, os quais foram cobertos com tecido não tecido (TNT). Os baldes foram mantidos

162 em sala fechada com temperatura controlada ($22,1\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,17$) durante doze dias. A
163 temperatura da sala e das silagens foi registrada a cada 30 minutos por meio de
164 termômetros data loggers inseridos no centro geométrico da massa de silagem e outro
165 no ambiente. A estabilidade aeróbia foi medida como o número de horas que a silagem
166 levou até subir 2°C acima da temperatura ambiente (Moran et al., 1996). A partir da
167 avaliação, foram determinadas as variáveis: Tempo em estabilidade aeróbia (**EA**),
168 Tempo em horas para a silagem atingir a temperatura máxima (**HmaxT**), Temperatura
169 máxima que a silagem atingiu (**TMax**), e amplitude (**AMP**; diferença entre a
170 temperatura máxima atingida pela silagem e temperatura mínima; Cherney e Cherney,
171 2003).

172 *2.2.4 Perdas de matéria seca e balanço de nutrientes.* Os cálculos de perdas e
173 recuperação de compostos, foram feitos com base no estudo de Udén (2017),
174 considerando a diferença de peso de cada componente nutricional da silagem após cada
175 TR.

176 *2.2.5 População microbiana e perfil fermentativo.* Após a abertura final dos silos,
177 foram coletados 25 g de silagem fresca para a quantificação de leveduras e mofos.
178 Utilizou-se extrato aquoso (1:10) com água peptonada (1g por litro de água),
179 homogeneizado durante 4 minutos em saco estéril. O número de leveduras e mofos foi
180 determinado por plaqueamento seriado com 7 diluições em meio potato dextrose ágar
181 (Sigma-Aldrich Brasil LTDA). Após incubação a 26°C por cinco dias, realizou-se a
182 contagem das colônias separadamente, com base nas características morfológicas.

183 A mensuração do pH foi realizada nas silagens no momento da abertura dos silos
184 e após cada tempo de exposição da massa durante a realocação. O pH também foi
185 mensurado após 12 dias de exposição aeróbia (**pH-12d**). Para determinação do pH, 25
186 gramas de silagem fresca foram colocadas em um béquer com 100 mL de água destilada

187 (Bolsen et al., 1992). Posteriormente, a amostra era homogeneizada com bastão de vidro
188 e após 30 minutos, foi realizada leitura do pH com eletrodo Tekna modelo T-1000.

189 Para análise do nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em um tubo de digestão foram
190 adicionados 4 mL de extrato aquoso (sobrenadante composto da mistura silagem de
191 milho com adição de ácido sulfúrico 0,2N) e 20 mL de água destilada. Foram
192 adicionados 10 mL de solução de hidróxido de potássio (2N) e procedeu-se a destilação
193 até recuperar cerca de 100 mL. Após isso, realizou-se titulação com ácido clorídrico
194 (0,005N) segundo método 920.03 (AOAC, 1990).

195 Para a quantificação dos ácidos orgânicos (Ácido lático (AL), ácido acético (AA),
196 ácido propiônico (AP)) foram pesados 25 g de silagem, solubilizadas em 300 mL de
197 água deionizada e homogeneizadas em aparelho tipo Stomacher segundo metodologia
198 proposta por Kraus et al. (1997). Posteriormente, realizou-se filtragem do sulco e
199 retirou-se uma alíquota de 1 ml para a realização da cromatografia gasosa. Foi utilizado
200 cromatógrafo de gases Agilent 7890A equipado com detector de ionização de chamas
201 (7683B) e uma coluna capilar de sílica fundida modelo - J & W 19091F-112 (Agilent
202 Technologies, Santa Clara, EUA).

203 **2.2.6 Composição química.** Para determinação da composição química, foram
204 coletadas 200g da silagem no momento da abertura dos silos e congeladas a - 20°C para
205 posterior análise. Após serem descongeladas a temperatura ambiente, foram pesadas e
206 submetidas à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar por 72 h a 55°C, sendo
207 posteriormente moídas em moinho de faca tipo Willey, com peneira com crivo de 1 mm
208 de diâmetro.

209 Após esses procedimentos as amostras foram levadas para estufa de secagem
210 definitiva (105°C) por 16h para determinação de matéria seca (MS) (método 934.01) e
211 posteriormente em forno mufla (600°C/4h) para determinação da matéria mineral (MM)

212 (método 923.03) (AOAC, 1990). O teor de extrato etéreo (EE) foi determinado em
213 aparelho Extrator de Gordura modelo XT10- Ankom® (Ankom Technology, Macedon,
214 NY). A concentração de proteína bruta (PB) foi determinada pelo método Kjeldahl
215 (método 978.04; AOAC, 1990). A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foi
216 determinada por método gravimétrico utilizando alfa amilase termoestável (método
217 2002.04; AOAC, 1990). Os valores de FDN foram corrigidos para cinzas (Mertens,
218 2002) e proteínas (Licitra et al., 1996). O conteúdo de CNF foi calculado segundo
219 Detmann e Valadares filho (2010). A digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS)
220 foi determinada em duplicata com a técnica de fermentação em duas etapas, de acordo
221 com Tilley e Terry (1963). O líquido ruminal foi obtido de duas vacas da raça nelore,
222 fistuladas no rúmen, e alimentadas com silagem de planta inteira de milho. O conteúdo
223 de carboidratos solúveis em água (CSA) foi determinado segundo Dubois et al. (1956).

224 **2.2.7 Análise estatística.** Os dados de pH e temperatura durante a realocação
225 foram submetidos apenas a análise descritiva. Os dados de contagem microbiana, foram
226 transformados para \log_{10} . Os dados foram analisados em delineamento inteiramente
227 casualizado, usando o procedimento PROC GLM do SAS (SAS Institute Inc., Cary,
228 NC).

229 Os dados foram submetidos a análise de variância de acordo com o modelo estatístico:

$$230 \quad Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

231 Onde: Y_{ij} = Observação j , referente ao TR i ; μ = Média geral; T_i = Efeito fixo do
232 tratamento (TR), e e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

233 As diferenças entre o controle e os demais tratamentos foram avaliadas utilizando-
234 se o teste de Dunnett ($P \leq 0,05$). Os efeitos de TR foram avaliados por meio de contraste
235 linear ou quadrático ($P \leq 0,05$), excluindo-se os tratamentos controle. Todas as análises
236 consideraram $P < 0.05$ como valor crítico para o erro tipo I.

237

2.3 RESULTADOS

238

239

240

241

242

243

A composição química e temperatura das silagens antes da realocação, e pH após a realocação estão demonstrados na Tabela 1. O teor de MS variou entre 295 e 315 g/kg, demonstrando baixa variação desse fator entre as silagens antes da realocação. O pH após TR variou entre os valores de 3,4 a 3,8. As silagens com maiores TR apresentaram maiores valores de TF e TMax. A TMin não teve grande variação entre as silagens realocadas.

244

245

246

247

248

249

Não observamos efeito de TR ($P < 0,05$) para mofos, leveduras, AL, AP, EA, AMP, HmaxT, TMax e pH-12d (Tabela 2). O teor de AA das silagens com TR de 12h foi menor em relação ao controle. Apenas o pH das silagens no TR de 60h foi maior do que o controle. O pH diminuiu linearmente em função de TR. A EA apresentou efeito quadrático em função de TR. Por outro lado, o aumento de TR resultou em redução linear de AMP e HMaxT.

250

251

252

253

254

255

256

257

Não observamos efeito de TR ($P < 0,05$) para MO, CNF, DIVMS e CSA (Tabela 3). O TR de 60 horas resultou em aumento no teor de MS ($P = 0,05$) e PB ($P = 0,04$) em relação ao controle. O teor de EE no TR de 36h diferiu da silagem controle ($P = 0,01$). As silagens expostas durante 60h na realocação, apresentaram maior valor de PB em comparação ao controle. O FDN nos TR de 30 e 40h foram mais elevados do que o controle ($P < 0,01$). Os TR de 6 a 60h apresentaram teores maiores de N-NH₃ em relação ao controle ($P < 0,01$). O teor de EE reduziu linearmente em função do TR, enquanto os teores de PB e FDN aumentaram linearmente com o aumento no TR.

258

259

260

261

Para os parâmetros: MS, MO, EE, PB, FDN, houve maiores ganhos do que perdas, em relação ao balanço de nutrientes (Tabela 4). No caso do CNF e FDN, ocorreram perdas, que podem ser observadas pelos valores negativos nos TR. Por outro lado, a recuperação de nutrientes (Tabela 4), demonstra que a recuperação de MS, MO,

262 EE, PB, FDN e CNF foi positiva, sendo demonstrada pelos valores acima de 100. Os
263 parâmetros que foram perdidos em maior quantidade, representados pelos valores
264 negativos no nutriente balance, foram os que tiveram valores abaixo de 100 na
265 recuperação dos nutrientes

266 2.4 DISCUSSÃO

267
268 A deterioração aeróbia da silagem ocorre quando esta entra em contato com
269 oxigênio atmosférico, o que desencadeia uma série de reações previamente reportadas,
270 como aumento na população de leveduras na temperatura e mais tardiamente, no pH.
271 Entretanto, a temperatura é o parâmetro mais rápido de ser mensurado e que apresenta
272 modificações expressivas decorrente do processo de deterioração aeróbia, como
273 observado no presente estudo em função do TR. À medida que o período se estende,
274 outras alterações podem ocorrer, como aumento no pH e conseqüentemente nas
275 populações de outros microrganismos, como mofos e outras bactérias aeróbias. Tal fato
276 não foi observado mesmo no maior TR de 60 horas. Dessa forma, discutiremos se tais
277 alterações podem influenciar nas características da silagem realocada após a abertura
278 dos silos.

279 No presente estudo, não observamos modificações que pudessem comprometer
280 o perfil de fermentação e a preservação das silagens, apesar de terem sido expostas por
281 até 60 horas, uma vez que não foram observadas diferenças nas populações microbianas
282 e no perfil fermentativo em relação à silagem não realocada. Isso mostra que o oxigênio
283 incorporado na massa de silagem durante o TR foi consumido novamente no silo durante
284 o novo processo fermentativo que se instaurou após a vedação do silo, atenuando os
285 efeitos da exposição aeróbica. Entretanto, o aumento linear do pH em silagens
286 realocadas é explicado pela oxidação dos carboidratos solúveis e do ácido lático a CO₂
287 e água, favorecendo a sucessão de microrganismos aeróbios, suprimidos anteriormente

288 pelo baixo pH do meio (Rooke e Hatfield., 2003). No entanto, como o tempo de
289 exposição foi limitado até 60 horas, o maior valor de pH na abertura observado (3,95)
290 ainda esteve na faixa recomendada para silagem de milho (3,8-4,2), (Mcdonald et al.,
291 1991).

292 Outros estudos reportaram poucas alterações no perfil de fermentação e
293 populações microbianas em silagens de milho e sorgo realocadas por até 48 horas (Chen
294 e Weinberg, 2014; de Lima et al., 2016; Michel et al., 2016; dos Anjos et al., 2018).
295 Reduções nas concentrações de AL, AP e N-NH₃, e aumento nas perdas por efluentes
296 foram observadas em silagens de sorgo realocadas por até 12 horas (dos Anjos et al.,
297 2018).

298 Apesar de não observarmos alterações nos produtos da fermentação, a
299 estabilidade aeróbia aumentou em função de TR. Esse fato ocorreu devido a entrada de
300 oxigênio na massa, durante a exposição aeróbia na realocação. O oxigênio promove a
301 proliferação de microrganismos iniciadores da deterioração (leveduras), que
302 metabolizam carboidratos solúveis, amido (Mcdonald et al., 1991) e ácidos orgânicos
303 (Driehuis et al., 2001). Dessa forma, a maior estabilidade das silagens com TR a partir
304 de 24 horas pode ser explicada pela menor disponibilidade de substratos para as
305 leveduras, pois estes foram consumidos durante o processo de realocação e
306 armazenamento das silagens após a realocação.

307 O aumento do teor de MS em função de TR, ocorreu através da desidratação pelo
308 contato com o ar, durante a exposição aeróbia das pilhas. Em trabalho de Chen e
309 Weinberg (2014) também foi observada secagem das silagens na exposição aeróbia
310 durante a realocação. As alterações na concentração de EE, PB e FDN são proporcionais
311 às alterações no teor de MS e em relação ao decréscimo de outros nutrientes, como os
312 carboidratos solúveis, que estão incluídos no CNF. Além disso, o maior contato da

313 silagem com oxigênio nos maiores TR pode ter aumentado a proteólise devido à
314 atividade microbiana, durante a realocação e o armazenamento, uma vez que a
315 concentração de N-NH₃ foi maior (Rooke e Hatfield, 2003).

316 As pequenas alterações na composição química não impactaram no valor
317 nutritivo da silagem, demonstrando que a qualidade final pode não ter sido
318 comprometida. Por outro lado, as alterações na composição química devem ser levadas
319 em consideração na formulação de dietas para vacas de leite, além de outros fatores
320 relacionados à preferência do animal pela silagem, como cor, odor e cheiro, os quais
321 podem influenciar o consumo.

322 Os ganhos de MS observados no balanço de nutrientes para as silagens realocadas
323 resultaram em valores de recuperação de MS superiores a 100%, demonstrando que a
324 exposição aeróbica prolongada durante a realocação provoca perdas de água na silagem
325 e concentra o teor de MS. Nesse caso, torna-se difícil quantificar as perdas de MS ou
326 recuperação, sendo necessário observar o balanço dos demais nutrientes, com o objetivo
327 de quantificar o que de fato é perdido. Os ganhos na concentração de PB podem estar
328 relacionados ao aumento no N-NH₃, uma vez que esta fração é quantificada na
329 metodologia de Kjeldhal. A recuperação de CNF foi reduzida com o aumento do TR,
330 devido ao consumo deste componente, durante a exposição das silagens ao ar e durante
331 o segundo processo fermentativo. O aumento de FDN em alguns TR é justificado pelo
332 aumento nas perdas de CNF, que não seguiram um padrão, porém foram maiores que
333 os ganhos desse componente.

334

2.5 CONCLUSÃO

335 A exposição das silagens de milho durante a realocação por até 60h, seguida
336 de 30 d de armazenamento anaeróbico, não compromete o perfil fermentativo e valor

337 nutritivo da silagem realocada. Entretanto, o teor de MS aumenta em função do TR por
338 conta da exposição aeróbia durante a realocação.

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

REFERÊNCIAS

- 361
362 A.O.A.C. (1990): Association of official, chemists, official methods of analysis. 15th
363 Edition, Washington DC, U.S.A.
364
- 365 Bastos, T. X.; Silva, G. de F. G.; Pacheco, N. A.; Figueiredo, R. 2006. Informações
366 agroclimáticas do município de Paragominas para o planejamento agrícola. Embrapa
367 Amazônia Oriental 6.p.
368
- 369 Bolsen, K. K.; Lin, C.; Brent, B. E. 1992. Effect of silage additives on the microbial
370 succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. *J. Dairy Sci.* 75:3066–
371 3083. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78070-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78070-9).
372
- 373 Bernardes, T. F.; Reis, R. A.; Amaral, R. C. do. 2009. Chemical and microbiological
374 changes and aerobic stability of marandú grass silages after silo opening. *R. Bras.*
375 *Zootec.* 38:1–8. <https://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000100001>.
376
- 377 Bernardes, T. F.; O'kiely, P. Deterioração aeróbia em silagens. p. 681-686. In: Reis,
378 R.A; Bernardes, T. F; Siqueira, G. R. Forragicultura: Ciência, tecnologia e gestão dos
379 recursos forrageiros. Jaboticabal: Funep, 2013
380
- 381 Bernardes, T. F.; Rego, A. C. 2014. Study on the practices of silage
382 production and utilization on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 97:1852–
383 1861. <https://doi:10.3168/jds.2013-7181>.
384
- 385 Cherney, J. H.; Cherney, D. J. R. 2003. Assessing Silage Quality. In: Buxton et al. *Silage*
386 *Science and Technology*. Madison, Wisconsin, USA. p.141-198.
387
- 388 Chen, Y.; Weinberg, Z. G. 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn
389 silages on their quality. *J. Dairy Sci.* 97:406–410. <https://doi:10.3168/jds.2013-7098>.
390
- 391 Detmann, E.; Valadares Filho, S. C. 2010. On the estimation of non-fibrous
392 carbohydrates in feeds and diets. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 62:980–984.
393 <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352010000400030>.
394
- 395 Driehuis, F.; Oude Elferink, S. J. W. H.; Spoelstra, S. F. 2001. Anaerobic lactic acid
396 degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus*
397 *buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. 87:583-594.
398 <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00856.x>.
399
- 400 de Lima, E. M.; Gonçalves, L. C.; Keller, K. M.; Rodrigues, J.A.; Santos, F. P. C.;
401 Michel, P. H. F.; Raposo, V. S.; Jayme, D. G. 2016. Re-ensiling and its effects on
402 chemical composition, in vitro digestibility, and quality of corn silage after different
403 lengths of exposure to air. *Can. J. Anim. Sci.* 97:250–257.
404 <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0005>.
405
- 406 Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A.; Smith, F. 1956. Colorimetric
407 Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28:350–356.
408 <https://doi:10.1021/ac60111a017>.
409

- 410 dos Anjos, G. V. S; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Keller, K. M.; Coelho M.
411 M., Michel, P. H. F.; Ottoni, D., Jayme, D. G. 2018. Re-ensiling and inoculant
412 application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on
413 sorghum silages. J. Dairy Sci. 101:1–8. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13687>.
414
- 415 Kraus, T. J., Koegel, R. G., Straub, R. J., Shinnors, K. J. 1997. Leachate conductivity as
416 an index for quantifying level of forage conditioning. ASAE. 42:847-852.
417 <https://doi.org/10.13031/2013.13262>.
418
- 419 Licitra, G.; Hernandez, T.M.; Van Soest, P.J. 1996. Standardization of procedures for
420 nitrogen fractionation of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 57:347–358.
421 [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3).
422
- 423 McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. 1991. The biochemistry of silage. 2^a ed,
424 Marlow: Chalcombe Publications, 340p.
425
- 426 Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent
427 fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. J. AOAC Int.
428 85:1217–1240.
429
- 430 Michel, P. H. F.; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Keller, K. M.; Raposo, V. S.;
431 Lima, E. M.; Santos, F. P. C.; Jayme, D. G. 2016. Re-ensiling and inoculant application
432 with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionic* on sorghum
433 silages. Grass Forage Sci. 72:432–440. <https://doi.org/10.1111/gfs.12253>.
434
- 435 Moran, J. P.; Weinberg, Z. G.; Ashbell, G; Hen, Y.; Owen, T. R. 1996. A comparison
436 of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage.
437 Pages 162–163 in Proc. XI Int. Silage Conf. Univ. of Wales, Aberystwyth, UK.
438
- 439 Ranjit, N.K; Kung JR, L. 2000. The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus*
440 *plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of
441 Corn Silage. J. Dairy Sci, 83: 526–535.
442
- 443 Rooke, J. A; Hatfield, R. D. 2003. Biochemistry of ensiling. P. 31-95. In: Buxton, D.R.;
444 Muck, R.E.; Harrison, J.H. (Eds.). Silage science and technology. 1.ed. Madison:
445 American Society of Agronomy.
446
- 447 SAS. 2008. SAS/STAT 9.2 User’s Guide. SAS Institute Inc, Cary, NC.
448
- 449 Spoelstra, S. F; Courtin, M. G; Van beers, J. A. C. 1988. Acetic acid bacteria can initiate
450 aerobic deterioration of whole crop maize silage. Journal. agric. Sci, 111:127-132.
451
- 452 Tilley, J. M. A., Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of
453 forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18:104–111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x>.
454
- 455
- 456 Udén, P. 2017. Fresh and ensiled forage plants total composition, silage losses and the
457 prediction of silage composition from the crop. Grass Forage Sci. 73:420–431.
458 <https://doi.org/10.1111/gfs.12328>.
459

460 Velho, J. P.; Mühlbach, P. R. F.; Genro, T. C. M.; Sanchez, L. M. B.; Nornberg, J. L.;
461 Orqis, M. G.; Falkenberg, J. R. 2006. Alterações bromatológicas nas silagens de milho
462 submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem”. Ciênc. rural,
463 36: 916-9234. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000300029>.

464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506

507 **Tabela 1.** Composição química (g/kg da MS) e temperatura (°C) das silagens antes da
 508 realocação, bem como da planta inteira de milho, e pH das pilhas de silagens de milho
 509 antes da realocação

Item	Composição química da planta de milho ensilada e das silagens antes da realocação										
	TR										SEM
	Milho (PI)	0	6	12	18	24	30	36	48	60	
MS	324.0	310.0	305.0	315.0	320.0	315.0	314.0	295.0	307.0	309.0	2.73
MO	959.0	963.0	965.0	961.0	961.0	962.0	961.0	961.0	959.0	960.0	0.68
EE	18.6	22.0	29.0	25.0	29.0	26.0	31.0	29.0	32.0	34.0	1.47
PB	75.5	69.0	71.0	71.0	68.0	73.0	70.0	71.0	71.0	70.0	0.54
FDN	496.0	380.0	396.0	388.0	473.0	438.0	416.0	498.0	473.0	499.0	17.9
CNF	369.0	494.0	463.0	480.0	391.0	424.0	445.0	362.0	385.0	356.0	19.3
CSA	54.6	30.8	30.1	26.50	18.00	20.7	15.7	18.4	11.6	15.1	1.79
Item	Temperatura das pilhas de silagens durante e realocação e pH após a realocação										
	Milho (PI)	0	6	12	18	24	30	36	48	60	SEM
pH	ND	3.8	3.7	3.7	3.7	3.4	3.5	3.5	3.6	3.7	0.05
TI	ND	26.1	27.1	27.0	27.0	27.2	27.0	27.0	27.2	27.5	0.15
TF	ND	26.1	27.3	28.0	28.0	29.5	28.7	32.4	36.4	35.0	1.46
TMax	ND	26.1	27.3	28.1	28.5	31.1	31.4	34.0	41.5	39.6	2.06
TMin	ND	26.1	27.0	26.7	26.7	27.0	27.0	26.9	27.0	27.1	0.12

510 ND = Não determinado; Milho (PI) = Planta inteira de milho no momento da ensilagem.

511
 512
 513
 514
 515
 516
 517
 518
 519
 520
 521
 522
 523
 524
 525
 526
 527
 528
 529
 530
 531
 532
 533
 534
 535
 536
 537
 538
 539
 540
 541

542 **Tabela 2.** Composição microbiológica (log10 ufc/g), Estabilidade aeróbia (h) e produtos da fermentação (g/kg da MS), de silagens de milho,
543 após 30 dias da realocação

Item	TR										SEM	P ²	Contraste ³	
	NR	0	6	12	18	24	30	36	48	60			L	Q
Mofos	0.0	0.0	0.2	0.5	0.9	1.0	1.5	3.0	3.0	3.0	4.70	0.81	0.15	0.38
Leveduras	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	2.20	0.34	0.46	0.26
AL	56.3	47.7	37.4	53.7	44.3	41.5	62.6	59.2	32.1	52.5	37.3	0.08	0.72	0.43
AA	16.7	17.5	23.3	7.2*	11.6	9.8	33.6	14.6	22.4	13.5	27.7	0.03	0.84	0.83
AP	7.8	9.2	13.0	2.3	5.7	7.9	16.0	8.6	14.1	8.9	15.30	0.47	0.47	0.94
pH	3.7	3.7	3.7	3.6	3.7	3.7	3.8	3.8	3.9	3.95*	1.10	0.01	<0.01	0.77
EA	82.3	113.0	115.0	132.0	133.0	232.7	224.3	257.0	112.0	111.0	23.9	0.13	0.69	0.01
AMP	8.2	8.8	5.5	8.2	5.8	2.2	1.8	3.7	5.5	5.5	9.20	0.20	0.11	0.06
HmaxT	128.0	163.0	195.0	152.0	169.0	148.0	70.0	2.0	53.0	142.0	15.0	0.17	0.02	0.42
TMax	29.6	30.3	27.0	29.6	27.3	23.3	23.3	25.1	27.0	27.0	9.40	0.20	0.11	0.06
pH-12d	6.2	4.8	5.39	5.6	5.42	5.6	4.6	4.4	6.1	6.5	2.60	0.10	0.08	0.12

544 NR = Silagem não realocada, armazenada por 60 dias após ensilagem; * Difere do tratamento controle pelo Teste de Dunnet.

545 P = P-valor da análise de variância. ³L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático.

546 **Tabela 3.** Composição química (g/kg da MS) de silagens de milho, após 30 dias da realocação

Item ¹	TR										SEM	P ²	Contraste ³	
	NR	0	6	12	18	24	30	36	48	60			L	Q
MS	312.0	322.0	316.0	333.0	337.0	332.0	341.0	323.0	331.0	352.0*	46.0	0.05	0.01	0.86
MO	960.0	961.0	962.0	960.0	961.0	961.0	965.0	964.0	964.0	957.0	8.3	0.11	0.98	0.49
EE	37.4	35.1	36.7	34.0	43.4	42.0	31.1	20.9*	26.2	28.1	21.8	0.01	0.01	0.27
PB	86.3	84.9	81.5	83.9	85.9	84.7	80.0	86.2	82.0	87.7*	8.5	0.04	0.24	0.17
FDN	413.0	442.0	426.0	438.0	425.0	412.0	486.0*	442.0	448.0*	436.0	46.0	<0.01	0.14	0.24
NFC	424.0	399.0	417.0	404.0	407.0	374.0	374.0	367.0	407.0	404.0	66.6	0.61	0.86	0.29
DIVMS	714.0	728.0	725.0	724.0	704.0	695.0	726.0	716.0	707.0	696.0	4.9	0.75	0.18	0.56
N-NH ₃	52.6	60.2	65.5*	63.6*	61.2	67.3*	73.0*	71.4*	74.2*	74.2*	17.7	<0.01	<0.01	0.45
CSA	13.0	13.3	16.0	24.4	32.2	6.6	19.7	12.9	14.3	19.3	3.1	0.21	0.96	0.81

547 NR = Silagem não realocada, armazenada por 60 dias após ensilagem; * Difere do tratamento controle pelo Teste de Dunnet.

548
549
550
551
552 $P = P$ -valor da análise de variância. L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático.553 **Tabela 4.** Balanço (g/kg) e recuperação (%) de nutrientes, de silagens de milho, após
554 30 dias da realocação

Balanço de nutrientes (g/kg)										
TR										
Item	NR	0	6	12	18	24	30	36	48	60
MS	-61.3	18.9	1.60	57.1	26.6	41.7	35.5	-4.8	66.9	222.0
MO	-61.1	16.7	-1.10	55.8	27.1	-10.9	39.6	-2.0	69.8	219.0
EE	888.0	687.0	252.0	427.0	651.0	824.0	175.0	294.0	-123.0	25.2
PB	73.1	258.0	145.0	249.0	293.0	210.0	182.0	208.0	239.0	544.0
FDN	103.0	186.0	83.8	196.0	-70.6	-18.7	213.0	-113.0	14.7	73.2
CNF	76.0	-173.0	-95.1	-111	99.2	-85.7	-147.0	133.0	122.0	387.0
CSA	-52.3	-40.4	-2.4	4.9	-43.0	16.9	-1.7	13.3	13.4	12.7

Recuperação de nutrientes (%)										
TR										
Item	NR	0	6	12	18	24	30	36	48	60
MS	93.9	102.0	100.0	106.0	103.0	104.0	103.0	99.5	107.0	122.0
MO	93.9	102.0	99.9	106.0	103.0	98.9	104.0	99.8	107.0	121.0
EE	189.0	169.0	125.0	143.0	165.0	182.0	118.0	129.0	87.7	103.0
PB	107.0	126.0	115.0	125.0	129.0	121.0	118.0	120.0	124.0	154.0
FDN	110.0	119.0	108.0	120.0	92.9	98.1	121.0	88.8	102.0	107.0
CNF	108.0	82.7	90.5	88.9	109.0	91.4	85.3	113.0	112.0	139.0
CSA	4.5	5.8	11.2	11.4	3.5	12.5	7.6	7.5	13.7	14.2

555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594

NR = Silagem não realocada, armazenada por 60 dias após ensilagem.

1 RELOCATION AFFECTS THE QUALITY OF CORN SILAGE

2 **3 Artigo 2. Como o tempo de armazenamento afeta os produtos da fermentação e**
3 **valor nutritivo de silagens de milho realocadas?**4 **R. I. R. dos Santos,* R. C. A. Mendonça,* T. F. Bernardes,† C. Faturi,* T. C. da**
5 **Silva,* F. N. Domingues,* A. C. do Rêgo,***6 *Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia,
7 Belém, Pará, 66077-830, Brasil8 †Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 37200-000,
9 Brasil10 **RESUMO**11 A realocação de silagens, é uma técnica que auxilia os produtores no suprimento de
12 volumoso durante períodos de baixa disponibilidade de forragem. No entanto, muitos
13 produtores compram silagem realocada e estocam o material até sua necessidade de uso,
14 que pode ser imediata ou demorada. Porém, ainda é variável o que ocorre após a
15 realocação e posterior armazenamento por tempos variáveis. Diante disso, objetivou-se
16 avaliar se o tempo de armazenamento; 0, 4; 8; 16; 32; 64; e 128 dias afeta a
17 microbiologia, características fermentativas, estabilidade aeróbia e composição química
18 de silagens de milho. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente
19 casualizado com 4 repetições por tratamento. O milho foi colhido com teor de matéria
20 seca entre 30 a 35% e ensilado em silo trincheira por 150 dias. Após abertura do silo, a
21 silagem foi exposta ao ar por 9 horas, sendo realocada posteriormente em silos
22 experimentais. O tempo de armazenamento a partir de 32 dias após a realocação,
23 resultou em silagens com maior concentração de ácidos graxos voláteis e menor
24 população de leveduras e mofos no momento da abertura, o que as tornou as silagens
25 mais estáveis em aerobiose. Por outro lado, o pH final, após 7 dias de avaliação do teste

26 de estabilidade aeróbia, foi menor para o tratamento que ficou estocado 128 dias, reflexo
27 do maior acúmulo de ácidos orgânicos para este tratamento. Assim conclui-se que
28 silagens armazenadas por longos períodos após a realocação, possuem maiores perdas
29 de nutrientes por conta do longo período de armazenamento.

30 **Palavras-chave:** ácidos orgânicos, estabilidade aeróbia, fermentação, tempo de
31 armazenamento

32

33 ¹Esse artigo segue as normas da Revista Journal of Dairy Science

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

ABSTRACT

58
59 The relocation of silages is a technique that assists growers in the volume supply during
60 the phases of low forage availability. However, companies that produce silencing have
61 relocated and stockpiled material for the use of services, which may be immediate or
62 delayed. However, it is still variable what happens after a relocation and later storage
63 by variable times. The objective of this study was to determine the effects of storage
64 time on the microbiology, fermentative characteristics, aerobic stability and chemical
65 composition of corn silage. The experiment was conducted in a completely randomized
66 design with 4 replicates per treatment. Corn was harvested with the dry matter content
67 between 30 to 35% and ensiled in a bunker silo for 150 days. After 150 days of ensiling,
68 silage was removed from a bunker silo exposed to air for 9 h and relocated to
69 experimental silos and stored thereafter for periods ranging from 0 to 128 days. Twenty-
70 seven experimental silos were used in a completely randomized design, with four
71 replicates per treatment. The losses of dry matter and non-fiber carbohydrates increased
72 in corn silage stored for periods longer than 32 days after relocation. Relocated silages
73 showed greater aerobic stability when exposed to the air during relocation and this was
74 more pronounced, during prolonged storage periods. The quality of relocated silage
75 depends mainly on its composition at the time of relocation.

76 **Key words:** aerobic stability, fermentation, organic acids, time of storage

3.1 INTRODUÇÃO

77
78
79

A silagem de milho é uma fonte de alimento volumoso bastante utilizado na alimentação animal, principalmente na alimentação de bovinos leiteiros e em confinamentos com objetivo de intensificação da produção. Em estudo de Bernardes e do Rêgo (2014), 82,7% dos produtores de leite que responderam ao questionário, utilizam o milho sozinho ou em combinação com outras espécies forrageiras para produção de silagem. A silagem de milho possui um bom aporte de energia, com a participação dos grãos de milho na silagem, mais precisamente o amido, o que a faz ser bastante difundida quanto volumoso de boa qualidade.

87
88

A obtenção de silagem e o ato de realocá-las, está ligada principalmente a fatores climáticos, como irregularidade de chuvas, fatores acidentais como queimadas e também a fatores técnicos como falta de planejamento da produção forrageira (de Lima et al., 2016). Durante o processo de realocação, inevitavelmente a silagem é exposta a aerobiose, por um período variável, dependendo do tipo de realocação realizada. Se a silagem estiver sendo realocada em sacos para venda, a exposição aeróbia dura tempo menor do que se for realocada a granel em caminhões, até o silo de destino, o que vai ocasionar maior tempo de penetração do oxigênio na massa.

95
96
97
98
99
100
101

Muitos produtores possuem dúvida sobre o tempo que a silagem pode permanecer armazenada após sua confecção, ou após a compra da silagem realocada de outros produtores, questionando em quanto tempo seria seguro usar a silagem após a confecção (Chen e Weinberg, 2014). Após o processo de realocação para um novo silo, a massa vai passar por um novo processo fermentativo, podendo melhorar ou piorar algumas características da silagem. O consenso na literatura seria que a maioria das silagens chega a fase estável por volta de 3 a 6 semanas após a ensilagem. No entanto,

102 existem evidências que mudanças na composição química e microbiológica ocorrem
103 muito além desse período (Kung, 2013).

104 Diante do exposto, objetivou-se determinar se o tempo de estocagem afeta a
105 microbiologia, características fermentativas, estabilidade aeróbia e composição química
106 de silagens de milho realocadas.

107 **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

108 **3.2.1 Informações gerais.** A lavoura de milho foi cultivada no município de
109 Igarapé Açu/PA localizado a latitude 01°07'44" Sul e longitude 47°37'12" oeste. O milho
110 foi plantado com espaçamento de 20 cm entre plantas, totalizando um estande de 55.000
111 plantas/ ha. O milho foi colhido com teor de matéria seca de 40% por colhedora
112 tracionada por trator (JF C120, JF maquinas, São Paulo, Brasil).

113 **3.2.2 Procedimentos experimentais e delineamento experimental.** A silagem
114 foi confeccionada em silo do tipo trincheira. Após 150 dias de armazenamento, o silo
115 foi aberto e parte da silagem visivelmente deteriorada e uma camada de silagem com 20
116 cm de comprimento foi retirada do painel. Posteriormente, o painel permaneceu exposto
117 durante nove horas. Depois da exposição, a silagem foi realocada para 24 silos
118 experimentais (com capacidade de 15 litros), a fim de atingir densidade de 600kg/m³.

119 Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com setes
120 tratamentos: controle (silagem que não foi estocada, amostragem foi feita em pontos
121 equidistantes no painel do silo, antes da realocação) e os tempos de armazenamento
122 **(TA)** após a realocação (4; 8; 16; 32; 64; e 128 dias), com quatro repetições para cada
123 tratamento. Os silos permaneceram armazenados em sala com temperatura ambiente
124 (25°C a 30°C) até o momento da abertura, totalizando 154, 158, 166, 182, 214 e 278 dias
125 para cada TA, respectivamente.

126 **3.2.3 Avaliação da estabilidade aeróbia.** Para determinação da estabilidade
127 aeróbia foram coletados 1,5 kg de silagem fresca e transferida para baldes plásticos de
128 9 L, os quais foram cobertos com tecido não tecido (TNT). Os baldes foram mantidos
129 em sala fechada por sete dias em temperatura de $(25,8^{\circ}\text{C} \pm 0,33)$. A temperatura da sala
130 e das silagens foi registrada a cada 30 minutos por meio de termômetros data loggers
131 inseridos no centro geométrico da massa de silagem e outro no ambiente. A estabilidade
132 aeróbia foi medida como o número de horas que a silagem levou até subir 2°C acima da
133 temperatura ambiente (Moran et al., 1996). A partir da avaliação, foram determinadas
134 as variáveis: Tempo em estabilidade (**EA**), Tempo em horas para a silagem atingir a
135 temperatura máxima (**HmaxT**), Temperatura máxima que a silagem atingiu (**TMax**), e
136 amplitude (**AMP**; diferença entre a temperatura máxima atingida pela silagem e
137 temperatura mínima; Cherney e Cherney, 2003).

138 **3.2.4 Perdas de matéria seca e balanço de nutrientes.** Os cálculos de perdas e
139 recuperação de compostos, foram feitos com base no estudo de Udén (2017),
140 considerando a diferença de peso de cada componente nutricional da silagem após cada
141 TA e o peso antes do armazenamento.

142 **3.2.5 População microbiana e perfil fermentativo.** Após a abertura final dos
143 silos, foram coletados 25 g de silagem fresca para a quantificação de fungos
144 filamentosos e leveduras. Utilizou-se extrato aquoso (1:10) com água peptonada (1g por
145 litro de água), homogeneizado durante 4 minutos em saco estéril. O número de leveduras
146 e mofos foi determinado por plaqueamento seriado com 7 diluições em meio potato
147 dextrose ágar (Sigma-Aldrich Brasil LTDA). Após incubação a 26°C por cinco dias,
148 realizou-se a contagem das colônias separadamente, com base nas características
149 morfológicas.

150 A mensuração do pH foi realizada nas silagens no momento da abertura dos silos
151 após os tempos de armazenamento. O pH também foi mensurado após 7 dias (**pH-7d**)
152 de exposição aeróbia. Para determinação do pH, 25 gramas de silagem fresca foram
153 colocadas em um béquer com 100 mL de água destilada (Bolsen et al., 1992).
154 Posteriormente, a amostra era homogeneizada com bastão de vidro e após 30 minutos,
155 foi realizada leitura do pH com eletrodo Tekna modelo T-1000.

156 Para análise do nitrogênio amoniacal (N- NH₃) em um tubo de digestão foram
157 adicionados 4 mL de extrato aquoso (sobrenadante composto da mistura silagem de
158 milho com adição de ácido sulfúrico 0,2N) e 20 mL de água destilada. Foram
159 adicionados 10 mL de solução de hidróxido de potássio (2N) e procedeu-se a destilação
160 até recuperar cerca de 100 mL. Após isso, realizou-se titulação com ácido clorídrico
161 (0,005N) segundo método 920.03 (AOAC, 1990).

162 Para a quantificação dos ácidos orgânicos (Ácido láctico (AL), ácido acético (AA),
163 ácido propiônico (AP)) foram pesados 25 g de silagem, solubilizadas em 300 mL de
164 água deionizada e homogeneizadas em aparelho tipo Stomacher segundo metodologia
165 proposta por Kraus et al. (1997). Posteriormente, realizou-se filtragem do sulco e
166 retirou-se uma alíquota de 1 ml para a realização da cromatografia gasosa. Foi utilizado
167 cromatógrafo de gases Agilent 7890A equipado com detector de ionização de chamas
168 (7683B) e uma coluna capilar de sílica fundida modelo - J & W 19091F-112 (Agilent
169 Technologies, Santa Clara, EUA).

170

171 **3.2.6 Composição química.** Para determinação da composição química, foram
172 coletadas 200g da silagem no momento da abertura dos silos e congeladas a - 20°C para
173 posterior análise. Após serem descongeladas a temperatura ambiente, foram pesadas e
174 submetidas à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar por 72 h a 55°C, sendo

175 posteriormente moídas em moinho de faca tipo Willey, com peneira com crivo de 1 mm
176 de diâmetro.

177 Após esses procedimentos as amostras foram levadas para estufa de secagem
178 definitiva (105°C) por 16h para determinação do teor de matéria seca (MS) (método
179 934.01) e posteriormente em forno mufla (600°C/4h) para determinação da matéria
180 orgânica (MO) (método 923.03) (AOAC, 1990). O teor de extrato etéreo (EE) foi
181 determinado em aparelho Extrator de Gordura modelo XT10- Ankom® (Ankom
182 Technology, Macedon, NY). A concentração de proteína bruta (PB) foi determinada
183 pelo método Kjeldahl (método 978.04; AOAC, 1990). A fibra insolúvel em detergente
184 neutro (FDN) foi determinada por método gravimétrico utilizando alfa amilase
185 termoestável (método 2002.04; AOAC, 1990). Os valores de FDN foram corrigidos para
186 cinzas (Mertens, 2002) e proteínas (Licitra et al., 1996). O conteúdo de carboidratos não
187 fibrosos (CNF) foi calculado segundo Detmann e Valadares filho (2010). A
188 digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) foi determinada em duplicata com a
189 técnica de fermentação em duas etapas, de acordo com Tilley e Terry (1963). O líquido
190 ruminal foi obtido de duas vacas da raça nelore, fistuladas no rúmen, alimentadas com
191 silagem de planta inteira de milho. O conteúdo de carboidratos solúveis em água (CSA)
192 foi determinado segundo Dubois et al., (1956).

193

194

220 controle apenas no TA 128 d ($P < 0,01$). O parâmetro pH-7d diferiu do tratamento
221 controle nos TA de 2 e 128 d ($P < 0,01$). O aumento do TA resultou em redução linear
222 de pH, pH-7d, AMP e TMax, enquanto os valores de mofos, AA, AP, EA e HmaxT
223 aumentaram linearmente.

224 Não observamos efeito de TA para EE, N-NH₃ e CSA ($P > 0,05$; Tabela 6). O
225 teor de MS foi menor em relação ao controle nas silagens com TA de 4, 16, 32, 64 e 128
226 dias ($P < 0,01$). O teor de MO foi menor na silagem controle apenas nos TA de 32, 64
227 e 128 dias ($P < 0,01$), enquanto para os mesmos TA o teor de PB foi maior que o valor
228 observado na silagem controle ($P < 0,01$). O teor de FDN nos TA de 64 e 128 dias, foi
229 mais elevado do que o valor de FDN da silagem controle ($P < 0,01$), enquanto para CNF
230 nestes mesmos TA, o valor foi menor do que o controle. A DIVMS foi menor em relação
231 a silagem controle no TA 64. O aumento de TA resultou em redução linear de MS, MO,
232 e CNF, enquanto os valores de PB e FDN, aumentaram linearmente em função de TA.

233 Os ganhos e perdas dos componentes são demonstrados na Tabela 7. Nós
234 observamos que houve perda crescente dos componentes MS, MO e CSA com o avanço
235 de TA das silagens, principalmente aos 32 dias de armazenamento. O balanço negativo
236 dos nutrientes resultou em menor recuperação desses compostos no armazenamento das
237 silagens após a realocação. A recuperação da MS, reduziu conforme o avançar de TA,
238 refletindo os resultados do balanço, que foram negativos. Os teores de EE e PB foram
239 perdidos ou elevados em grandes proporções na massa. Observamos que para FDN, as
240 perdas foram variáveis em cada TA. Por outro lado, as perdas de CNF e CSA foram
241 crescentes a partir do TA de 32 dias, resultando em menor recuperação desse nutriente.

242

3.4 DISCUSSÃO

243
244 No ensaio em questão, observamos maiores quantidades de AA e AP a partir de
245 32 dias de armazenamento, o que influenciou nos valores mais baixos de pH na abertura
246 destas silagens e aumento na EA (Tabela 5). Mudanças nesses componentes após longos
247 períodos de ensilagem, indicam que ainda persiste alguma atividade microbiana, mesmo
248 quando o pH está baixo (Kung, 2013). Em estudo com silagens de milho armazenadas
249 por até 360 dias, Der Bedrosian et al. (2012) reportaram aumento nos teores de ácido
250 acético e 1,2 propanediol com o avançar do tempo de armazenamento.

251 A principal explicação para esse aumento é o metabolismo de que espécies de
252 bactérias láticas heterofermentativas, como *Lactobacillus buchneri*, que são hábeis em
253 realizar a conversão do ácido láctico em ácido acético e 1,2 propanediol em meio
254 anaeróbico (Driehuis et al., 1999; Oude Elferink et al., 2001; Der Berdrosian et al., 2012).
255 Outros autores têm reportado que algumas cepas de *Lactobacilus plantarum*. *L.*
256 *bifermentans* e *Streptococcus faecium* em condições anaeróbias e de baixa concentração
257 de CSA iniciam a produção de ácido fórmico e ácido acético, através da utilização do
258 ácido láctico (Kandler et al., 1983; Lindgren et al., 1990; London, 1968; Murphy e
259 Condon, 1984). A ação antifúngica dos ácidos orgânicos (acético e propiônico),
260 confirma-se por eles permearem facilmente pela membrana celular da levedura quando
261 estão em um meio em que o pH é menor que o pKa desses ácidos, ficando na forma não
262 dissociada, o que vai ocasionar a liberação de íons H⁺ no interior da levedura (Walker,
263 1998). Por consequência da entrada de íons H⁺, o pH da levedura vai diminuir levando
264 a morte da mesma por conta do transporte ativo realizado por ela para eliminar íons H⁺
265 do interior da célula, processo que requer energia (Mcdonald et al., 1991).

266 O aumento na EA e HMaxT pode ser explicado pelo aumento na
267 concentração de AA devido ao tempo de armazenamento. Entretanto, o fato de silagens
268 realocadas serem mais estáveis não pode ser considerado benéfico, uma vez que a

269 perda de nutrientes (CNF, CSA) foi maior nas silagens com maiores TA. Isso indica
270 que a realocação aumenta a degradação de nutrientes mesmo dentro do silo em função
271 tempo de armazenamento, mesmo em anaerobiose. A DIVMS também foi menor para
272 o TA de 64 d, demonstrando que essa redução que observamos de CNF, influencia na
273 redução da DIVMS das silagens realocadas e armazenadas posteriormente. Com isso,
274 é importante conhecer o período de armazenamento e a composição química da
275 silagem realocada antes de realizar a formulação das dietas.

276 A diminuição do teor de MS (Tabela 6) está relacionada com a diminuição de
277 CNF. Com o consumo de CNF, principalmente CSA, proporcionalmente os teores de
278 FDN foram elevados, principalmente nos tempos de armazenamento de 64 e 128 dias.
279 Ao avaliar o tempo de armazenamento em silagens de milho, Sariçiçek et al. (2016)
280 também observaram decréscimo no teor de MS com longos períodos de armazenamento.
281 Os CNF são a principal fonte de substratos fermentáveis disponíveis na ensilagem, neles
282 estão incluídos os CSA (glicose, frutose, sacarose, frutanos), sendo também importante
283 fonte de energia para microrganismos no rúmen (Bernardes et al., 2018). A redução
284 desses compostos causa diminuição do valor nutritivo das silagens.

285 Essa redução nos teores de MS, MO e CNF é refletida nas perdas elevadas desses
286 componentes conforme o avanço do tempo de armazenamento após a realocação
287 (Tabela 7). As maiores perdas de PB ocorreram até o TA de 32 dias, demonstrando que
288 a proteólise que ocorreu na massa, foi influenciada pela exposição aeróbia durante a
289 realocação. A recuperação de MS, MO e CNF reduziram com o avançar do TA. Tal
290 fato, têm relação com o aumento do teor de ácido acético e menor teor de matéria seca
291 para estes tempos de armazenamento, pois a rota de utilização do ácido lático e
292 conversão a ácido acético pela via heterolática, gera perdas de energia e matéria seca,
293 com produção de CO₂ e etanol (McDonald et al., 1991).

REFERÊNCIAS

323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372

- A.O.A.C. (1990): Association of official, chemists, official methods of analysis. 15th Edition, Washington DC, U.S.A.
- Bolsen, K. K.; Lin, C.; Brent, B. E. 1992. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. *J. Dairy Sci.* 75:3066–3083. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78070-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78070-9).
- Bernardes, T. F.; Rego, A. C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 97:1852–1861. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7181>.
- Bernardes, T. F., J. L. P. Daniel, A. T. Adesogan, T. A. McAllister, P. Drouin, L. G. Nussio, P. Huhtanen, G. F. Tremblay, G. Bélanger, and Y. Ca. J. 2018. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. *J. Dairy Sci.* 101:4001–4019. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13703>
- Cherney, J. H.; Cherney, D. J. R. 2003. Assessing Silage Quality. In: Buxton et al. *Silage Science and Technology*. Madison, Wisconsin, USA. p.141-198.
- Chen, Y.; Weinberg, Z. G. 2014. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. *J. Dairy Sci.* 97:406–410. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7098>.
- de Lima, E. M.; Gonçalves, L. C.; Keller, K. M.; Rodrigues, J.A.; Santos, F. P. C.; Michel, P. H. F.; Raposo, V. S.; Jayme, D. G. 2016. Re-ensiling and its effects on chemical composition, in vitro digestibility, and quality of corn silage after different lengths of exposure to air. *Can. J. Anim. Sci.* 97:250–257. <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0005>.
- Der Bedrosian, M. C; Nestor, K. E; Kung Jr, L. 2012. The effects of hybrid, maturity and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *J. Dairy Sci.* 95:5115 –5126. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4833>.
- Detmann, E.; Valadares Filho, S. C. 2010. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 62:980–984. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352010000400030>.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A.; Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28:350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Driehuis F.; Oude Elferink, S. J. W. H.; Spoelstra, S. F. 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *J. Appl. Microbiol.* 87:583–594.
- Kandler, O; Schillinger, U; Weiss, N. 1983. *Lactobacillus bifermentans* sp. nov. nom. rev., an Organism Forming CO₂ and H₂ from Lactic Acid. *Syst Appl Microbiol.* 3:408–12. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(83\)80025-3](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(83)80025-3).

- 373
374 Kraus, T. J., Koegel, R. G., Straub, R. J., Shinnors, K. J. 1997. Leachate conductivity as
375 an index for quantifying level of forage conditioning. ASAE. 42:847-852.
376 <https://doi.org/10.13031/2013.13262>.
377
- 378 Kung Jr, L. 2013. The effects of length of storage on the nutritive value and aerobic
379 stability of silages. Pages 7-19 in Proc. International symposium on forage quality and
380 conservation, Campinas. 3., July 22-23, 2013.
381
- 382 Licitra, G.; Hernandez, T.M.; Van Soest, P.J. 1996. Standardization of procedures for
383 nitrogen fractionation of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 57:347-358.
384 [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3).
385
- 386 Lindgren, S.; Axelssona, L. T; Mcfeeter, R. F. 1990. Anaerobic-lactate degradation by
387 *Lactobacillus plantarum*. FEMS Microbiol. 66:209-213. [https://doi.org/10.1016/0378-](https://doi.org/10.1016/0378-1097(90)90284-W)
388 [1097\(90\)90284-W](https://doi.org/10.1016/0378-1097(90)90284-W).
389
- 390 London, J. 1968. Regulation and function of lactate oxidation in *Streptococcus faecium*.
391 J Bacteriol. 95:1380-1387.
392
- 393 Mcdonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. 1991. The biochemistry of silage. 2^a ed,
394 Marlow: Chalcombe Publications, 340p.
395
- 396 Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent
397 fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. J. AOAC Int.
398 85:1217-1240.
399
- 400 Moran, J. P.; Weinberg, Z. G.; Ashbell, G; Hen, Y.; Owen, T. R. 1996. A comparison
401 of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage.
402 Pages 162-163 in Proc. XI Int. Silage Conf. Univ. of Wales, Aberystwyth, UK.
403
- 404 Murphy, M. G; Condon, S. 1984. Comparison of aerobic and anaerobic growth of
405 *Lactobacillus plantarum* in a glucose medium. Arch Microbiol. 138:49-53.
406
- 407 Oude Elferink, S. J. W. H.; Krooneman, J.; Gottschal, J. C.; Spoelstra, S. F.; Faber, F.;
408 Driehuis, F. 2001. Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2-
409 Propanediol by *Lactobacillus buchneri*. Appl. Environ. Microbiol. 67:125-132.
410 <https://doi.10.1128/AEM.67.1.125-132.2001>.
411
- 412 SAS. 2008. SAS/STAT 9.2 User's Guide. SAS Institute Inc, Cary, NC.
413
- 414 Sariçiçek, B. Z; Yildirim, B; Kocabaş, Z; Özgümüş Demir, E., 2016. The Effects of
415 Storage Time on Nutrient Composition and Silage Quality Parameters of Corn Silage
416 Made in Plastic Mini Silo in Laboratory Conditions. J. Inst. Sci. & Tech. 6:177-183.
417 <https://doi:10.21597/jist.2016321853>.
418
- 419 Tilley, J. M. A., Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of
420 forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18:104-111. [https://doi.org/10.1111/j.1365-](https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x)
421 [2494.1963.tb00335.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x).
422

423 Udén, P. 2017. Fresh and ensiled forage plants total composition, silage losses and the
424 prediction of silage composition from the crop. *Grass Forage Sci.* 73:420–431.
425 <https://doi.org/10.1111/gfs.12328>.

426
427 Walker, G. M. *Yeast physiology and biotechnology*. London: Wiley Editorial Offices,
428 1998. 350p.

429
430
431
432
433

434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461

462
463
464
465
466
467

468 **Tabela 5.** Composição microbiológica (log₁₀ ufc/g), Estabilidade aeróbia (h) e produtos da
469 fermentação (g/kg da MS), de silagens de milho, armazenadas em diferentes tempos após a
470 realocação

Item ¹	TA (dias)							SEM	P	Contraste ³	
	NA	4	8	16	32	64	128			L	Q
	Mofos	2.1	0.5*	0.6*	0.9*	1.4*	1.7*			0.0	2.4
Lev.	2.0	1.4	0.6	0.4	1.6	1.6	0.0	6.0	0.09	0.09	0.82
AL	26.0	32.0	58.0	32.0	22.0	36.0	26.0	11.9	0.06	0.06	0.32
AA	29.0	13.2	24.0*	32.0	74.0*	76.0*	78.0*	28.1	<0.01	<0.01	0.10
AP	18.0	0.0	0.0	6.0	65.0*	87.0*	112.0*	46.3	<0.01	0.03	0.02
pH	4.0	3.8*	3.6*	3.9	4.4*	4.0	3.7*	2.6	<0.01	0.20	<0.01
EA	1.9	9.0	31.3*	50.4*	148.0*	214.0*	252.0*	389.0	<0.01	<0.01	<0.01
AMP	14.7	17.3	15.4	11.8	10.3	5.2*	2.2*	21.0	<0.01	<0.01	0.02
HmaxT	24.5	44.4*	58.1*	92.2*	228.0*	279.0*	281.0*	43.2	<0.01	<0.01	<0.01
TMax	40.7	43.3	41.4	37.8	36.3	31.2	28.2*	21.0	<0.01	<0.01	<0.01
pH-7d	7.2	7.8*	7.1	7.6	7.3	7.5	5.1*	10.7	<0.01	<0.01	<0.01

471 NA = Silagem não armazenada após realocação; Lev = Leveduras; *Difere do controle pelo teste de Dunnet.

472 ³P = P-valor da análise de variância.

473

474

475

476

477

478

479 **Tabela 6.** Composição química (g/kg da MS) de silagens de milho armazenadas em diferentes
480 tempos após a realocação

Item ¹	TA (dias)							SEM	P	Contraste ³	
	Control	4	8	16	32	64	128			L	Q
	MS	337.0	304.0*	327.0	306.0*	285.0*	285.0*			278.0*	8.40
MO	977.0	976.0	977.0	972.0	971.0*	973.0*	970.0*	1.20	<0.01	<0.01	0.11
EE	23.0	22.0	24.0	22.0	27.0	28.0	24.0	0.90	0.22	0.16	0.11
PB	54.0	56.0	54.0	56.0	59.0*	62.0*	62.0*	1.30	<0.01	<0.01	0.01
FDN	381.0	397.0	371.0	409.0	400.0	426.0*	423.0*	7.70	<0.01	0.01	0.22
CNF	519.0	500.0	528.0	485.0	485.0	456.0*	458.0*	10.50	<0.01	0.01	0.06
DIVMS	666.0	651.0	615.0	604.0	589.0	531.0*	604.0	16.60	0.02	0.80	0.55
N-NH ₃	74.0	64.0	64.0	63.0	71.0	68.0	67.0	1.50	0.26	0.45	0.33
CSA	20.0	14.3	25.6	20.5	19.6	19.3	18.8	1.25	0.77	0.80	0.91

481 Controle = Silagem não armazenada após realocação; *Difere do controle pelo teste de Dunnet.

482 ³P = P-valor da análise de variância.

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495 **Tabela 7.** Balanço (g/kg) e recuperação (%) de nutrientes, de silagens de milho,
 496 armazenadas em diferentes tempos após a realocação

Balanço de nutrientes (g/kg)						
TA						
Item ¹	4	8	16	32	64	128
MS	-95.6	-29.3	-89.6	-148.0	-151.0	-173.0
MO	-96.7	-29.7	-94.5	-154.0	-155.0	-179.0
EE	-76.6	86.0	-90.2	51.0	97.3	-73.4
PB	-69.1	-40.5	-62.9	-82.1	-39.3	-19.4
FDN	-61.7	-61.4	-26.6	-109.0	-55.5	-86.3
CNF	-126.0	-10.1	-148.0	-202.0	-251.0	-269.0
CSA	-369.0	207.0	-82.0	-186.0	-217.0	-256.0
Recuperação de nutrientes (%)						
TA						
Item	4	8	16	32	64	128
MS	90.4	97.1	91.0	85.2	84.9	82.7
MO	90.3	97.0	90.5	84.6	84.5	82.1
EE	92.3	109.0	91.0	105.1	109.7	92.7
PB	93.1	96.0	93.7	91.8	96.1	98.1
FDN	93.8	93.9	97.3	89.0	94.5	91.4
CNF	87.4	99.0	85.2	79.8	74.9	73.1
CSA	63.0	120.0	91.7	81.4	78.2	74.4

497