



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA TROPICAL**

**LIFRANC LAURENT**

**SILAGEM DE MILHO REALOCADA: EFEITO DA APLICAÇÃO DO  
LEITE FERMENTADO E INOCULANTES APÓS ABERTURA DO SILO**

**TERESINA-PI**

**2025**

LIFRANC LAURENT

**SILAGEM DE MILHO REALOCADA: EFEITO DA APLICAÇÃO DO  
LEITE FERMENTADO E INOCULANTES APÓS ABERTURA DO SILO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical – PPGZT da Universidade Federal do Piauí – UFPI, na área de Produção Animal nos trópicos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fernandes Perazzo

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Loiola Edvan

**TERESINA-PI**

**2025**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Divisão de Representação da Informação

L382s Laurent, Lifranc.  
Silagem de milho realocada : efeito da aplicação do leite fermentado e inoculantes após abertura do silo / Lifranc Laurent. – 2025.  
49 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical, Centro de Ciências Agrárias, Teresina, 2025.

“Orientação: Prof. Dr. Alexandre Fernandes Perazzo.”

“Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Loiola Edvan.”

1. Bactérias ácido-láticas. 2. Ensilagem. 3. Estabilidade aeróbia.  
4. *Lactobacillus buchneri*. 5. *Lactobacillus hilgardii*. I. Perazzo, Alexandre Fernandes. II. Edvan, Ricardo Loiola. III. Título.

CDD 633.15

Bibliotecário: Gésio dos Santos Barros – CRB3/1469

LIFRANC LAURENT

**SILAGEM DE MILHO REALOCADA: EFEITO DA APLICAÇÃO DO  
LEITE FERMENTADO E INOCULANTES APÓS ABERTURA DO SILO**


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical – PPGZT da Universidade Federal do Piauí – UFPI, na área de Produção Animal nos trópicos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fernandes Perazzo

Coorientador: Prof.Dr. Ricardo Loiola Edvan

Aprovado em 14 de janeiro de 2025.


**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **ALEXANDRE FERNANDES PERAZZO**  
Data: 06/03/2025 08:51:13-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Alexandre Fernandes Perazzo


(UFPI) Orientador

Documento assinado digitalmente  
 **RICARDO LOIOLA EDVAN**  
Data: 05/03/2025 14:58:14-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Ricardo Loiola Edvan


(UFPI) Coorientador

Documento assinado digitalmente  
 **DANILLO MARTE PEREIRA**  
Data: 08/03/2025 16:47:41-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Danillo Marte Pereira (UFPB)

Examinador Externo

Documento assinado digitalmente  
 **HENRIQUE NUNES PARENTE**  
Data: 09/03/2025 07:28:09-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Henrique Nunes Parente (UFMA)

Examinador Externo

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me iluminar com sabedoria e discernimento nos momentos difíceis e pela fé que me mantém firme na busca dos meus objetivos profissionais.

À Universidade Federal do Piauí pela oportunidade de realizar um mestrado em Produção Animal na área de pesquisa sobre Conservação de Forragens.

Ao meu orientador, professor Alexandre Fernandes Perazzo, e ao meu coorientador, professor Ricardo Loiola Edvan, por acreditarem no meu potencial, por me guiarem com paciência e por sempre me motivarem e incentivarem.

Aos membros do Grupo de Extensão Rural em Forragicultura do Piauí (GEFORPI), em especial aos integrantes Andres, João Paulo, Milka, Andreza, Clara, Maysa, Walyson, Ravickson, Samila, e à professora Shirlenne, pelo seu empenho e ajuda.

À minha família: minha mãe Mélanie Vilcourt, meu pai Lifraïlle Laurent, meu irmão e minhas irmãs, Frail, Cherna, Lidane e Hermane, que, mesmo à distância, sempre me encorajaram.

Aos meus amigos Keny, Pascal, Elius, Kerley, Lucas e Jonas pelo apoio ao meu sucesso.

À minha grande amiga Evelyn por toda sua ajuda, dedicação, solicitude e paciência nos momentos difíceis.

Ao CNPq pelo apoio com a bolsa de pós-graduação. Agradeço a todos que contribuíram para que eu alcançasse este título.

## RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a qualidade da silagem de planta inteira de milho após realocação com diferentes aditivos, incluindo leite fermentado, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 combinados com *Lentilactobacillus hilgardii* NCIMB 4785, e sem aditivos (controle), em distintos períodos após a realocação. Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial  $4 \times 3$ , composto por quadro tratamentos (controle, leite fermentado, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *Lentilactobacillus hilgardii* NCIMB 4785) e três períodos de aberturas (15, 60 e 90 dias após a realocação). Foram avaliadas perdas (gases, efluentes) e índice de recuperação matéria seca), pH, nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), perfil microbiológico e composição química da silagem. Houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre tratamento e tempo (A x T) para o índice de recuperação de matéria seca (RMS) e perdas (efluentes e gases). Silagens realocadas sem aditivos (controle) apresentaram maior (0,77%) perda de gases aos 15 dias, enquanto aquelas tratadas com *L. buchneri* + *L. hilgardii* mostraram menor (0,00 %) perda aos 90 dias. A contagem de bactérias ácido-láticas (BAL) nas silagens tratadas com inoculantes e leite fermentado foi semelhante ( $P = 0,03$ ) à do controle aos 90 dias. Silagens tratadas com *L. buchneri* + *L. hilgardii* apresentaram maior teor de matéria seca aos 15 dias, e todas as silagens tratadas mantiveram níveis superiores ao controle aos 90 dias. A interação aditivo e tempo (A x T) ( $P < 0,05$ ) também mostrou variação significativa na proteína bruta (PB), com silagens tratadas com *L. buchneri* apresentando maior teor de PB em comparação ao controle e às tratadas com *L. buchneri* + *L. hilgardii* e leite fermentado aos 90 dias. O pH das silagens tratadas com inoculantes foram menores (4,09, 4,08; 3,93,3,90) aos 60 e 90 dias de realocação. Estes resultados indicam que o uso de inoculantes melhora a qualidade da silagem de planta inteira do milho realocada, especialmente em períodos mais longos.

**Palavras-chaves:** Bactérias ácido-láticas; ensilagem; estabilidade aeróbia; *Lactobacillus buchneri*; *Lactobacillus hilgardii*.

## ABSTRACT

This project aimed to evaluate the quality of whole-plant corn silage after relocation with different additives, including fermented milk, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 combined with *Lentilactobacillus hilgardii* NCIMB 4785, and without additives (control), at different periods after relocation. A completely randomized experimental design (CRD) was used in a  $4 \times 3$  factorial scheme, consisting of four treatments (control, fermented milk, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *Lentilactobacillus hilgardii* NCIMB 4785) and three opening periods (15, 60, and 90 days after relocation). Losses (gases, effluents) and dry matter recovery index, pH, ammoniacal nitrogen (N-NH<sub>3</sub>), microbiological profile, and chemical composition of the silage were evaluated. There was a significant interaction ( $P < 0.05$ ) between treatment and time ( $A \times T$ ) for the dry matter recovery index (DMR) and losses (effluents and gases). Relocated silages without additives (control) had higher (0.77%) gas losses at 15 days, while those treated with *L. buchneri* + *L. hilgardii* showed the lowest (0.00%) loss at 90 days. The count of lactic acid bacteria (LAB) in silages treated with inoculants and fermented milk was similar ( $P = 0.03$ ) to the control at 90 days. Silages treated with *L. buchneri* + *L. hilgardii* had a higher dry matter content at 15 days, and all treated silages maintained higher levels than the control at 90 days. The interaction between additive and time ( $A \times T$ ) ( $P < 0.05$ ) also showed a significant variation in crude protein (CP), with silages treated with *L. buchneri* having higher CP content compared to the control and those treated with *L. buchneri* + *L. hilgardii* and fermented milk at 90 days. The pH of silages treated with inoculants was lower (4.09, 4.08; 3.93, 3.90) at 60 and 90 days after relocation. These results indicate that the use of inoculants improves the quality of relocated whole-plant corn silage, especially over longer periods.

**Keywords:** Aerobic stability; ensiling; lactic acid bacteria; *Lactobacillus buchneri*; *Lactobacillus hilgardii*.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Processamento das amostras no Laboratório de forragicultura (LABFOR) da UFPI.....     | 21 |
| <b>Figura 2.</b> Silos depois de pesagem e pesagem de vazios para avaliar perdas de matéria seca ..... | 22 |
| <b>Figura 3.</b> Processamento das amostras no Laboratório de Nutrição Animal da UFPI .....            | 23 |
| <b>Figura 4.</b> Processamento das amostras no Laboratório de forragicultura (LABFOR) da UFPI.....     | 23 |
| <b>Figura 5 .</b> Determinação da temperatura na estabilidade aeróbica.....                            | 24 |

## LISTA DAS TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1.</b> Características das silagens de milho (química, microbiológica, Temperatura, Perfil fermentativo, ácidos orgânicos).....                                    | 19 |
| <b>Tabela 2.</b> Valores de pH e composição microbiológicas de silagens realocada de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado (ufc/g de MS).....                    | 26 |
| <b>Tabela 3.</b> Perdas por gases, efluentes e recuperação de matéria seca em silagens realocadas de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado.....                  | 28 |
| <b>Tabela 4.</b> Composição química e nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ) de silagens realocada de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado (g/kg de MS)..... | 29 |
| <b>Tabela 5.</b> Ácidos orgânicos de silagens realocadas de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado (g/kg MS) .....  | 32 |
| <b>Tabela 6.</b> Valores de pH e estabilidade aeróbia (EA) de silagens de milho realocadas armazenadas por 90 dias sob exposição aeróbia .....                               | 33 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                   |  |
|-------------------|--|
| A                 | Aditivo  |
| AA                | Ácido acético  |
| AL                | Ácido láctico  |
| BAL               | Bactérias ácido lácticas                                       |
| CaTP              | Capacidade tampão  |
| CST               | Carboidratos totais  |
| EA(h)             | Tempo em estabilidade aeróbia                                  |
| EE                | Extrato etéreo   |
| ENTERO            | Enterobactérias  |
| FDA               | Fibra insolúvel em detergente ácido                            |
| FDN               | Fibra insolúvel em detergente neutro                           |
| LB                | <i>Lactobacillus buchneri</i>                                  |
| LBLH              | <i>lactobacillus buchneri</i> + <i>lactobacillus hilgardii</i> |
| LF                | Leite fermentado   |
| LEV               | Leveduras  |
| MM                | Matéria mineral  |
| MS                | Matéria seca   |
| N-NH <sub>3</sub> | Nitrogênio amoniacal   |
| PB                | Proteína bruta   |
| RMS (%)           | Índice de recuperação da matéria seca                          |
| SR                | Silagem realocada sem inoculantes                              |
| Te                | Temperatura  |
| T                 | Tempo  |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|     |                               |
|-----|-------------------------------|
| °C  | Graus Celsius                 |
| g   | Gramma                        |
| kg  | Quilograma                    |
| ufc | Unidade Formadora de Colônias |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>RESUMO.....</b>  | <b>8</b>  |
| <b>ABSTRACT .....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>LISTA DE FIGURAS .....</b>   | <b>10</b> |
| <b>LISTA DAS TABELAS .....</b>  | <b>11</b> |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>   | <b>12</b> |
| <b>LISTA DE SÍMBOLOS.....</b>   | <b>13</b> |
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>9</b>  |
| <b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>   | <b>11</b> |
| <b>2.1 Cultivo de milho para silagem .....</b>  | <b>11</b> |
| <b>2.2 Realocação de silagem .....</b>  | <b>13</b> |
| <b>2.3 Aditivos microbianos de silagem na realocação .....</b>  | <b>15</b> |
| <b>2.4 Leite Fermentado .....</b>   | <b>16</b> |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>   | <b>17</b> |
| <b>3.1 Local De Experimentação .....</b>  | <b>17</b> |
| <b>3.2. Projeto e processamento estatístico .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>3.3 Silagem de milho e realocação de silagem .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>3.4 Determinação microbiológica da silagem realocada .....</b>   | <b>20</b> |
| <b>3.5 Análise de perdas da silagem realocada.....</b>  | <b>21</b> |
| <b>3.6 Determinação da composição química da silagem realocada .....</b>                                  | <b>22</b> |
| <b>3.7 Valores de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) da silagem realocada ...</b>               | <b>23</b> |
| <b>3.8 Determinação de estabilidade aeróbica da silagem realocada após de 90 dias da realocação .....</b> | <b>24</b> |
| <b>3.8 Determinação do teor de ácidos orgânicos da silagem realocada.....</b>                             | <b>25</b> |
| <b>3.9 Análise estatística .....</b>  | <b>25</b> |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>   | <b>26</b> |
| <b>5. DISCUSSÃO .....</b>   | <b>33</b> |
| <b>6. CONCLUSÃO.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS .....</b>   | <b>38</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A ausência de planejamento forrageiro, agravada principalmente por variações climáticas ao longo do ano, são fatores que contribuíram para a comercialização de silagens, geralmente na forma realocada. Por ser uma das culturas mais empregadas nos sistemas de produção animal, a planta inteira de milho conservada na forma de silagem (Bernardes e Do Rêgo, 2014) tem ganhado destaque no mercado de comercialização de alimentos volumosos.

A realocação de silagem é uma atividade bastante frequente adotada pelos pecuaristas em diferentes regiões do mundo. As principais motivações para a realocação são a venda de silagens ou a distância do estábulo em relação ao silo. Nesse processo, a silagem é retirada do silo original e estocada em outro silo (Chen e Weinberg, 2014). Este manejo, envolve desde o desabastecimento, transporte, nova compactação e vedação no novo silo, procedimentos estes que podem variar de horas a dias (Dos Anjos *et al.*, 2018). Para Michel *et al.* (2017), neste período, a silagem é exposta a aerobiose, o que pode acarretar em uma proliferação de microrganismos aeróbicos maléficos que se multiplicam rapidamente e provocam degradação do material, ocasionando perdas para o produtor. Essa degradação pode ser reduzida ou retardada com a utilização de aditivos.

Poucos são os estudos relacionados ao processo de deterioração em silagens realocadas. Contudo, considera-se que o êxito na transferência de silagens está ligado às propriedades qualitativas do material inicial, incluindo o padrão de fermentação, o nível de leveduras e fungos, bem como a rapidez com que o procedimento é realizado (Chen e Weinberg, 2014; Michel *et al.*, 2017; Dos Anjos *et al.*, 2018). Uma estratégia para aprimorar o perfil fermentativo em silagens que serão realocadas é por meio do uso de inoculantes microbianos capazes de produzirem ácidos antifúngicos durante o processo fermentativo anaeróbico, e aumentam a estabilidade aeróbia das silagens (Muck *et al.*, 2018).

A utilização de aditivos na silagem realocada pode influenciar no processo fermentativo, o que favorece a conservação da massa ensilada. Além disso, o uso de aditivos pode proporcionar diminuição nas perdas nutricionais da silagem realocada, aumentando sua durabilidade e seu valor energético, além de promover melhorias na digestibilidade da matéria seca e fibra (Gomes *et al.*, 2021). De acordo com Silva *et al.* (2018), a utilização de inoculantes como o *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus*

*buchneri* combinados com *Lactobacillus hilgardii* no processo de realocação de silagem do milho, tem como objetivo o aumento da microflora benéfica, através do aumento desta microflora ocorre o aceleração da fermentação do material ensilado e o estímulo de fermentações benéficas a conservação do material ensilado e é o aditivo mais utilizado na produção de silagens.

Algumas pesquisas têm verificado cepas específicas de bactérias lácticas para aprimorar a silagem, as quais são: *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 e *lentilactobacillus hilgardii* NCIMB 4785. Essas cepas têm demonstrado desempenhos satisfatórios no aumento da estabilidade aeróbica, dependendo das condições de armazenamento e dos tipos de forragens utilizadas (ARRIOLA *et al.*, 2021). *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus hilgardii* são bactérias heteroláticas que apresentam o máximo de resistência a condições aeróbicas por médio da produção de ácidos lácticos e ácido acético que impedem o crescimento de leveduras e mofos (Oude Elferink *et al.*, 2001; Krooneman *et al.*, 2002; Heinl, SPath, Grabherr 2012; Ferrero *et al.*, 2019). Além disso, a efetividade dos inoculantes de silagem contendo bactérias lácticas (BAL) não é sempre garantida e isso pode estar relacionado aos fatores que segue. Estes incluem flutuações nas condições do manejo, aos tipos das substâncias usadas no inóculo e às propriedades das dietas (Diepersloot *et al.*, 2021). Portanto, é essencial continuar a pesquisa para explorar e comparar diferentes tipos de inoculantes, bem como suas interações com diversos tipos de forragens e práticas de utiliza o leite fermentado poderia ser uma alternativa nesse sentido.

O leite fermentado é um produto obtido do leite desnatado ou integral, pasteurizado ou não é determinadas culturas iniciadoras, fermentação em contracorrente ou natural. Ele pode ser fermentado usando uma ou mais das seguintes culturas bacterianas: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium spp.*, *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* e/ou outras bactérias lácticas (Silva *et al.*, 2021). O leite fermentado pode ter efeito parecido com os inoculantes comerciais, pois devido ao seu teor de bactérias lácticas, que produz, ácido láctico que tem papel na diminuição do pH.

Embora a realocação de silagem seja um procedimento comum em algumas fazendas, ela tem sido pouco estudada em termos de composição química, estabilidade aeróbica, microbiologia, perfil de fermentação e perdas (Marques *et al.*,

2022). Por outro lado, na maioria dos estudos sobre realocação de silagens, a aplicação de aditivos ocorre no momento da ensilagem, visando otimizar a fermentação desde o início do armazenamento (Chen e Weinberg, 2014; Michel *et al.*, 2017; Dos Anjos *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2018). No entanto, poucos estudos exploram o uso de aditivos aplicados após a abertura do silo, onde o risco de perdas nutricionais e microbiológicas pode aumentar significativamente devido à movimentação do material.

A hipótese do estudo é que a aplicação de leite fermentado e inoculantes comerciais, como *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus hilgardii*, no momento da realocação, após a abertura do silo, pode melhorar a estabilidade aeróbica e a recuperação de matéria seca da silagem de milho. Essa abordagem busca oferecer alternativas viáveis para produtores e fornecer subsídios para outros estudos sobre o tema, permitindo a manutenção da qualidade da silagem durante o processo de realocação, com impactos positivos na preservação de nutrientes e eficiência no uso dos volumosos.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a qualidade da silagem realocada de milho com a adição de leite fermentado e inoculantes comerciais *lenticlobacillus buchneri* NCIMB 40788 e *lenticlobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *lenticlobacillus hilgardii* NCIMB 4785), em diferentes tempos de abertura após a realocação, seu efeito na estabilidade aeróbica e recuperação da matéria seca, e na manutenção da qualidade nutricional da silagem ao longo do tempo.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Cultivo de milho para silagem**

O milho (*Zea mays L.*) é uma planta pertencente à família Graminea/Poaceae e tem grande importância econômica e social devido à sua grande adaptabilidade aos mais diversos climas e regiões. Esse cereal está presente em muitas situações cotidianas, desde a alimentação humana até a alimentação animal e, mais recentemente, tem sido utilizado como biocombustível (De Souza *et al.*, 2018). É cultivado em abundância em todo o mundo, e o Brasil se destaca como um dos principais produtores devido à diversidade de cultivares e híbridos e à tradição no cultivo desse cereal (Ranum *et al.*, 2014).

De acordo com Couto *et al.* (2017), cerca de 70% da produção de milho é utilizada na alimentação animal, podendo esse percentual chegar a 85% nos países

mais desenvolvidos, principalmente pelo fato de o milho ser um alimento fundamental na dieta de animais confinados. Fasolo e Carvalho (2021) destacam que as características inerentes à silagem de milho a tornam um alimento muito importante nas fazendas de gado leiteiro e de corte. De acordo com Zopollatto *et al.* (2009), a produtividade da cultura do milho para produção de silagem está ligada a vários aspectos, sendo alguns relacionados à planta: ciclo de produção, dureza do endosperma, altura da planta e proporção de grãos; outros relacionados ao ambiente: condições climáticas, cultivo, densidade de semeadura e época de corte.

De acordo com Mancipe Muñoz *et al.* (2022), o milho tem boa adaptabilidade a climas tropicais, alta produtividade, teor adequado de matéria seca, alto valor nutricional, boa aceitação pelos animais, baixa capacidade de tamponamento e níveis adequados de carboidratos solúveis que favorecem a fermentação da silagem e a preservação subsequente.

Fancelli e Dourado Neto (2000) relataram que o milho pode ser ensilado de quatro maneiras diferentes: 1) silagem de planta inteira, em que a planta é cortada a uma altura de cerca de 20 cm do solo e picada na ensiladeira, com posterior compactação do material e fechamento do silo; 2) silagem da parte superior da planta, com o corte sendo feito próximo à espiga, o que aumenta a participação dos grãos na massa ensilada e, conseqüentemente, o teor de energia e de fibras digestíveis da silagem; 3) silagem de espigas, que permite armazenar alimentos com alta concentração de energia, e 4) silagem de grãos úmidos de milho, que permite armazenar cereais de forma prática e econômica.

Historicamente, o material mais utilizado para a produção de silagem tem sido o milho de planta inteira, devido à sua composição químico-bromatológica, pois atende aos requisitos para a produção de silagem de boa qualidade, tais como: teor de matéria seca entre 30 e 35%, presença de no mínimo 3% de carboidratos solúveis no material original e baixa capacidade tampão, o que confere à massa ensilada boa fermentação microbiana. Além disso, a silagem de milho de planta inteira produz mais fitomassa seca por hectare (Nussio *et al.*, 2001). De acordo com Neumann *et al.* (2011), a silagem de planta inteira também reduz o custo de rações concentradas devido à alta porcentagem de cereais na massa ensilada, o que a torna uma excelente ração de energia mista.

A silagem de milho tem sido bastante utilizada pelos pecuaristas durante o período de seca, em que ocorre uma menor produtividade das plantas forrageiras e,

consequentemente, ocorre uma menor disponibilidade de forragem de qualidade para a alimentação dos animais. Além disso, a silagem de milho é muito utilizada em sistemas de confinamento, sendo o principal alimento volumoso fornecido para os animais, juntamente com os alimentos concentrados (Gonçalves *et al.*, 2009). A utilização de silagens pelos produtores pode proporcioná-los diversos benefícios, dentre eles podem-se destacar a possibilidade de manejar um maior número de animais por unidade de área, potencialização da produção de leite e carne, complementação alimentar durante o período seco para manutenção do rebanho, possibilidade de armazenamento de grande quantidade de forragem em espaço reduzido e manejo racional das pastagens (Dalla'gnol *et al.*, 2022).

De acordo com Paula *et al.* (2021), o milho é considerado a espécie padrão para a produção de silagem, sendo a planta forrageira mais utilizada para este método de conservação. A planta de milho é bastante propícia para a fase de ensilagem, isso é que explica o porquê do seu cultivo em várias regiões do mundo e em grandes áreas (Factori *et al.*, 2008). Para Adesogan (2010), o que faz que a silagem de milho seja amplamente utilizada é a elevada concentração energética, devido à presença do amido e de fibra. A alta concentração de amido é benéfica por estimular a produção de proteína microbiana no rúmen. A presença da fibra estimula a salivacão, que tampona a acidez ruminal, evitando assim vários problemas de saúde nos ruminantes.

## **2.2 Realocação de silagem**

Existem vários argumentos que os produtores empregam a técnica de realocação de silagem como alternativa para a falta de forragem que é durante a estação seca (Bernardes e Do Rêgo, 2014). Essas razões incluem o fornecimento de recurso forrageiro durante o ano; o terreno da propriedade; as perdas percebidas do material ensilado devido à falta de conhecimento relativo à realocação; mão de obra qualificada insuficiente na região; falta de espaço para alocação; falta de apoio técnico especializado.

O movimento de fornecimento de silagem pode acontecer entre fazendas, entre produtores e varejistas e dentro da fazenda, este último acontece porque por exemplo a fazenda não tem estrutura para construir o silo perto onde os animais são alimentados ou então por que o silo é construído perto onde a forragem é colhida, isso facilita o preenchimento. Nessas condições, o transporte da silagem é uma boa opção para vendas e demandas das fazendas e que pode acontecer de diversas formas,

na maioria das vezes em saco plásticos adequados ou em silos estruturais (Chen e Weinberg, 2014). Segundo Coelho *et al.* (2018), todos esses aspectos somados à facilidade no transporte, manipulação e comercialização do produto fazem com que a relocação silagem seja uma opção que tem sido cada vez mais utilizada nas fazendas.

No entanto, quando a silagem é realocada, o material ensilado fica exposto ao ar por períodos que podem variar de algumas horas a vários dias, dependendo da logística implementada durante o transporte, até que seja ensilado novamente e, durante essa exposição, a proliferação de microrganismos degradadores é frequentemente observada (Chen e Weinberg, 2014). Segundo McDonald, Henderson, Heron, (1991), a aeração da massa ensilada por causa do tempo de exposição do material à oxigenação altera o perfil microbiológico da silagem remanejada devido à proliferação de microrganismos indesejáveis tais como os fungos filamentosos e leveduras eleva o grau de vulnerabilidade da silagem à deterioração. Além disso, esses microrganismos também podem afetar a qualidade do material ensilado, pois consomem compostos solúveis e degradam vários nutrientes (Tangni *et al.*, 2013).

Embora os fungos e bolores na superfície, nas laterais e no painel da silagem indiquem sua deterioração, muitos agricultores não têm o hábito de descartar essas partes claramente deterioradas. Bernardes e Do Rêgo (2014) estudaram as rotinas de produção e o consumo de silagem em propriedades leiteiras no Brasil, constatando que 88,8 % dos entrevistados não descartam o material aparentemente deteriorado antes de oferecê-lo aos animais. Que pode ser sinônimo de prejuízo à saúde do rebanho, pois a silagem pode estar contaminada com microrganismos lesivos, tais como os clostrídios.

A preocupação com os clostrídios é especialmente importante porque são microrganismos gram-positivos que produzem esporos, é possível que os animais ingiram junto com a silagem. Isso é particularmente relevante para a alta produção de vacas leiteiras. Os esporos podem ser eliminados nas fezes dos animais e naquele junto com o úbere. Quando há a cor contaminação do úbere por fezes, os esporos de clostrídios podem ser transferidos para o leite. Se queijos feitos com leite contaminado, em especial pelo *Clostridium tyrobutyricum*, o processo chamado de “late blowing”. Este problema é caracterizado pela formação de fenda e buracos no queijo e o torna quebradiço (Pahlow *et al.*, 2003).

Os principais fatores que afetam a estabilidade da silagem durante seu uso incluem o aumento da temperatura, a diminuição da concentração de carboidratos solúveis, a grande população de fungos e leveduras, além da interação da concentração de ácidos orgânicos com o pH (Jobim *et al.*, 2007). Fungos filamentosos e leveduras são prejudiciais, já que além de quebrarem açúcares e ácido láctico pela respiração, hidrolisam e assim metabolizam celulose e outros componentes da parede celular vegetal (Rooke e Hatfield, 2003).

A deterioração da silagem geralmente começa com a redução nos açúcares residuais uma prevalência de nitrogênio amoniacal e dióxido de carbono, este último indicador de perda de matéria seca. Uma série de trabalhos investigaram a influência de exposição ao ar na qualidade da silagem reutilizada. Velho *et al.* (2006) observou que o tempo de exposição da silagem de milho ao oxigênio após a abertura do silo afeta o teor de fibra e lignina. Eles concluíram que um intervalo de 12 horas de exposição influenciava negativamente o valor nutricional da silagem.

Chen e Weinberg (2014) também analisaram o efeito da exposição ao ar na qualidade da silagem de milho. Eles descobriram que silagens de alta qualidade, com elevada produção de ácidos orgânicos, permanecem seguras para realocação e que o tempo de realocação não afetou significativamente sua qualidade.

### **2.3 Aditivos microbianos de silagem na realocação**

Os aditivos microbianos são compostos por bactérias do ácido láctico, com ou sem enzimas (amilases, celulasas e hemicelulasas), e são a classe de aditivos mais comumente usadas na produção de silagem (Coan *et al.*, 2005). De acordo com Filya *et al.* (2000), esses aditivos têm as seguintes vantagens: são fáceis de usar, não oferecem risco à saúde humana ou animal, não são corrosivos, não oferecem risco ao meio ambiente e são fáceis de armazenar, o que facilita sua comercialização.

De acordo com Muck (1993), o uso de aditivos microbianos é bem-sucedido graças a três fatores: a população natural de bactérias do ácido láctico, o teor de carboidratos solúveis da planta e a cepa de bactérias presentes no aditivo. Esse último fator diz respeito à compatibilidade entre a planta e os microrganismos, pois os microrganismos que compõem esses aditivos devem ser altamente eficazes na competição com a flora microbiana natural da planta e devem ser mais eficazes no processo de fermentação do material ensilado.

O uso de aditivos microbiológicos, como o *Lactobacillus buchneri* e o *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus hilgardii*, em silagens remanejadas tem como função inibir o crescimento de microrganismos aeróbicos, em particular aqueles associados à estabilidade aeróbica da silagem, inibir o crescimento de organismos anaeróbicos indesejáveis, como clostrídios e enterobactérias, reduzir a atividade de proteases e deaminases na planta e nos microrganismos, adicionar aeróbios benéficos à massa de silagem para que dominem a fermentação e, como resultado, formem produtos finais benéficos que estimulem o consumo e a produção animal, além de melhorar a recuperação da matéria seca da forragem preservada (Kung Jr., 2018).

De acordo com Muck *et al.* (2018), o aditivo com uma população de *Lactobacillus buchneri* é um dos aditivos mais estudados pela comunidade científica, com um efeito notável sobre a estabilidade aeróbica da silagem. Essas bactérias do ácido láctico transformam a glicose e a frutose em ácido láctico e outros produtos finais. A respeito dos aeróbios, a consequência é a redução anaeróbia, em etanol e ácido acético, e 1,2-propanodiol Láctico do Ácido, atrasando o crescimento das leveduras e fungos filamentosos na silagem da dieta (McDonald, Henderson, Heron, 1991; Da Silva *et al.*, 2021).

Para Jobim *et al.* (2007), a estabilidade aeróbica é um fator que deve ser melhor investigado na produção de silagem e pode ser definida como a capacidade da massa de silagem de se decompor após a abertura do silo, ou seja, quanto desgasta-se ao exposta ao ar. A perda da estabilidade aeróbica da silagem geralmente se manifesta por um aumento na temperatura da massa de silagem e uma mudança no pH. No entanto, o uso de aditivos microbianos, como *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus buchneri* combinados com *Lactobacillus hilgardii*, pode aumentar a estabilidade aeróbica da silagem realocada após a abertura dos silos.

## 2.4 Leite Fermentado

O leite fermentado é um dos produtos lácteos que são produzidos em grande quantidade em muitos países do mundo. A fermentação do leite é um dos processos mais básicos existe há mais de dez mil anos (Tamime, 2002). A fermentação do leite foi uma prática bastante comum nos primeiros estados da formação da humanidade, dada a falta de preservação dos alimentos, por exemplo, refrigeração ou pasteurização. No passado, a fermentação consistia no acúmulo dos microrganismos preexistentes no meio, que coagulam o leite e produzem um produto com diferentes

características e propriedades físico-químicas da matéria prima (Faria, Benedet, Guerroue, 2006).

O leite fermentado é formado por bactérias do gênero *Lactobacillus*, *bacinetes* Gram-positivos que produzem ácido lático e de grande valor para os fabricantes de laticínios. São bactérias aerotolerantes de produzir ácido lático a partir de carboidratos elementares (Tortora, Funke, Case, 2005). As bactérias do ácido lático são em sua maioria anaeróbias facultativas, podem crescer em presença de oxigênio, mas se desenvolvem melhor em meio com baixa concentração de oxigênio. Agregadamente, são sacarolíticas e mesofílicas. Geram grandes volumes de ácido lático: Se feito largo uso do açúcar na produção de energia, há produção de maiores quantidades de ácidos lácticos e outros resultantes. As bactérias podem ser classificadas em homofermentativas e em heterofermentativas, assim como já foi dito anteriormente.

As bactérias homofermentativas, ou que realizam a fermentação homoláctica produzem ácido lático além do ácido lático praticamente o único produto ao quebrarem a glicose as heterofermentativas que fazem a fermentação heteroláctica produzem em quantidades apreciáveis outros produtos como o dióxido de carbono e o ácido acético além do ácido lático (Ferreira, 2001).

As bactérias do ácido lático desempenham um papel fundamental no processo de ensilagem porque, além de inibir o crescimento de microrganismos nocivos, elas permitem uma melhor recuperação da energia dos carboidratos fermentados por meio da produção de ácido lático (McDonald, Henderson, Heron, 1991).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local De Experimentação**

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia (DZOO), localizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI), no Laboratório de Forragicultura (LABFOR) (latitude 5°2'27"S; longitude 42°46'48"O), localizado na cidade de Teresina, no estado do Piauí. O clima da cidade é classificado como Aw, com temperatura média anual de 27,9°C e precipitação média anual de 1.451 mm.

### **3.2. Projeto e processamento estatístico**

O ensaio foi conduzido um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial  $4 \times 3$ , composto por quatro tratamentos (controle, leite fermentado, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *Lentilactobacillus hilgardii* NCIMB 4785) e três períodos de aberturas (15, 60 e 90 dias após a realocação). O primeiro fator foi o efeito dos aditivos: os inoculantes comerciais (*lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788+ *lentilactobacillus hilgardii* NCIM 4785) e leite fermentado. O segundo fator foi o período de tempo em que o silo foi aberto após a realocação: 15, 60 e 90 dias. E um delineamento experimental inteiramente casualizado sem esquema fatorial (DIC) foi utilizado para determinar a estabilidade aeróbia após 90 dias da realocação.

### **3.3 Silagem de milho e realocação de silagem**

O milho é um híbrido, variedade BRS 3046 Saboroso, foi plantado e colhido no período de março a outubro de 2023 por funcionários do Departamento de Zootecnia. Antes da abertura, a silagem de milho foi armazenada por 90 dias em silo tipo trincheira de 300 m<sup>3</sup>, localizado no Departamento de Zootecnia da UFPI. No momento da abertura do silo antes da realocação, foram avaliados a composição química, a população de microrganismos, o teor de ácidos orgânicos e o teor de pH da silagem de milho (Tabela 1).

**Tabela 1.** Características das silagens de milho (química, microbiológica, Temperatura, Perfil fermentativo, ácidos orgânicos)

| Composição química de silagens de milho antes da realocação (g/kg Ms) |           |               |       |                   |        |                |       |
|---|-----------|---------------|-------|-------------------|--------|----------------|-------|
| MS  | MM        | FDN           | FDA   | PB                | EE     | CST            | CaTp  |
| 247,6   | 30,3      | 404,7         | 204,4 | 78,9              | 35,4   | 75,6           | 286,9 |
| Composição microbiológica de silagens antes da realocação (ufc/g)     |           |               |       |                   |        |                |       |
| BAL   | LEVEDURAS | MOFOS         |       |                   | ENTERO |                |       |
| 1,74  | 3,5       | 0             |       |                   | 3,5    |                |       |
| Temperatura e perfil fermentativo da silagem                          |           |               |       |                   |        |                |       |
| Te  |           |               |       | N-NH <sub>3</sub> |        | pH             |       |
| 32 <sup>o</sup> C   |           |               |       | 2,8               |        | 4,2            |       |
| Ácidos orgânicos de silagens antes da realocação (g/kg de MS)         |           |               |       |                   |        |                |       |
| Ácido láctico   |           | Ácido acético |       | Ácido propiônico  |        | Ácido butírico |       |
| 18,54   |           | 46,81         |       | 9,63              |        | 7,34           |       |

MS - Matéria seca; MM - Matéria mineral; EE - Extrato etéreo; PB - Proteína bruta; FDN - Fibra em detergente neutro; FDA- Fibra detergente ácido; N-NH<sub>3</sub> – Nitrogênio amoniacal; CST - Carboidratos totais; CaTp- Capacidade de tampon; BAL- bactérias lácticas; LEV- Leveduras- ENTERO- Enterobactérias; To -Temperatura; pH- Potencial hidrogeniônico

A silagem de milho de planta inteira foi realocada em silos experimentais (potes plásticos de 3,6 litros) com capacidade de armazenamento de 3-4 kg. Os inoculantes comerciais e o leite fermentado foram adicionados no momento da realocação. A quantidade de 4 (quatro) gramas de *Lactobacillus buchneri* e quatro (4) gramas de *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus hilgardii* foram diluídos em um litro de água destilada e aplicados à massa de forragem a uma taxa de 100 ml de produto diluído por 100 kg de forragem. O leite fermentado comercial foi diluído a uma taxa de 200 ml do produto para 1 litro de água e aplicado a uma taxa de 100 ml do produto diluído por 100 kg de forragem, conforme as recomendações do fabricante.

Para caracterizar a qualidade da silagem realocada, ela foi analisada 15, 60 e 90 dias após a realocação usando as seguintes variáveis: perdas (gás, efluente) e recuperação de matéria seca; pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>); Teor de ácidos orgânicos; determinação da população microbiológica; composição química, estabilidade aeróbica.

### 3.4 Determinação microbiológica da silagem realocada

Foram realizadas as análises microbiológicas, com o preparo prévio e esterilização dos meios de crescimento (para mofos e leveduras, bactérias ácido lácticas e enterobactérias) e vidrarias a serem utilizados por meio da técnica de autoclave. Foi adicionada água destilada às garrafas plásticas autoclaváveis providas de tampas, com auxílio de balões volumétricos de 100 mL e de pipetas de vidro de 1 e 10 mL. Para as diluições (1 a 6) foi utilizada uma garrafa de um litro contendo água destilada que foi autoclavada a 120°C durante 15 minutos. Foram adicionadas 10 gramas da amostra da silagem fresca, quando a temperatura de água destilada estava morna ou fria, com adaptações da metodologia descrita por González e Rodrigues (2003).

A partir disso, foi pipetado 1 mL desse material e realizadas as diluições necessárias nas demais garrafas. Portanto, após a pipetagem de 1 mL da diluição anterior, a alíquota foi introduzida na garrafa com a diluição seguinte, sempre realizando homogeneização prévia ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ). Dessa forma, o material foi submetido à agitação manual para que o extrato se tornasse homogêneo. As placas de Petri foram distribuídas em duplicata por diluição e identificadas pelas seguintes denominações: bactérias ácido-láticas (BAL), enterobactérias (ENT) e mofo e levedura (ML). Após a adição da alíquota de amostra retirada dos Erlenmeyers, foi feita uma homogeneização manual da placa sobre a bancada (em formato de “8”). Assim, placas com diluição ímpar devem ser pipetadas com 1 mL de amostra, e nas placas com diluição par foram adicionados somente 0,1 mL, independentemente da cultura analisada. Posteriormente, foi realizada a adição de uma fina camada do meio de cultura em cada placa e a distribuição do material. Todas as placas foram armazenadas na estufa bacteriológica a 35°C. Após esse período, foi feita a contagem para cada grupo de microrganismos.



**Figura 1.** Processamento das amostras no Laboratório de forragicultura (LABFOR) da UFPI

### 3.5 Análise de perdas da silagem realocada

Os silos experimentais foram pesados no fechamento e na abertura, e as perdas de matéria seca (MS) na forma de gases e efluente, bem como a recuperação de matéria seca (RMS), foram determinadas de acordo com as equações descritas por Jobim et al. (2007).

A perda por gases foi obtida a partir da diferença de peso da massa de forragem seca:  $PG = (PCI - PCf) / (MFi \times MSi) \times 10000$ , onde: G: perdas por gases (g/kg MS); PCI: peso do silo cheio no fechamento (kg); PCf: peso do silo cheio na abertura (kg); MFi: massa de forragem no fechamento (kg); MSi: teor de matéria seca da forragem no fechamento (dag/kg).

As perdas de efluentes foram calculadas com a seguinte equação, baseada na diferença de peso da areia e relacionada à massa de forragem fresca no fechamento:  $PE = [(PVf - Ts) - (PVi - Ts)] / MFi \times 100$ , onde: E: produção de efluentes (kg/tonelada de silagem); PVi: peso do silo vazio + peso da areia no fechamento (kg); PVf: peso do silo vazio + peso da areia na abertura (kg); Ts: peso do silo vazio; MFi: massa de forragem no fechamento (kg).

Para estimar a recuperação de matéria seca:  $RMS = (MFa \times MSa) / (Mff \times MSf) \times 100$ , onde: RMS: taxa de recuperação de matéria seca (dag/kg); MFa: massa de forragem na abertura (kg); MSa: teor de matéria seca da forragem na abertura (dag/kg); Mff: massa de forragem no fechamento (kg); MSf: teor de matéria seca da forragem no fechamento (dag/kg).



**Figura 2.** Silos depois de pesagem e pesagem de vazios para avaliar perdas de matéria seca

### 3.6 Determinação da composição química da silagem realocada

A composição química foi avaliada seguindo a metodologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT), onde foram realizadas as determinações de matéria seca (MS) em estufa sem ventilação forçada de ar (Método G-003/1), proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldahl (Método N-001/2), gordura bruta (GB) pelo método de Randall (Método G-005/2), matéria mineral pelo método da queima em mufla (Método M-001/2), fibra em detergente neutro (FDN) utilizando autoclave, pelo método INCT-CA F-002/2, fibra em detergente ácido (FDA) utilizando autoclave, pelo método INCT-CA F-004/2 (AOAC, 1997).

A capacidade do tampão foi determinada de acordo com Mizubuti *et al.* (2009), usando a seguinte equação:  $CATP = \{[0,1 \times (V_a - V_b)] \div PA\} \times 100$

Onde: CATP = capacidade de tamponamento em mg NaOH/100 g MS; 0,1 = normalidade do NaOH;  $V_a$  = volume de NaOH usado para elevar o pH da amostra de 4,0 para 6,0;  $V_b$  = volume de NaOH usado para elevar o pH do branco de 4,0 para 6,0; PA = peso da amostra seca =  **$[(\text{peso da amostra} \times \text{MS}) \div 100]$** .

O método ácido sulfúrico concentrado, sugerido por Dubois *et al.* (1956), sofreu modificações por Corsato, Filho, Sales, (2008). Os compostos orgânicos foram obtidos através da extração com etanol. A leitura da absorbância de 490 nm com o padrão D-glicose (Dubois *et al.*, 1956) quantificou as concentrações de carboidratos solúveis. O quociente de TSC, expresso em g/100 mL, foi calculado a

partir da solução e posteriormente ajustado de acordo com o conteúdo de matéria seca das amostras utilizadas.



**Figura 3.** Processamento das amostras no Laboratório de Nutrição Animal da UFPI

### 3.7 Valores de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) da silagem realocada

A determinação de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) foram realizadas segundo metodologia descrita por Bolsen *et al.* (1992). Em 90 mL de água destilada foram adicionados 10 g de silagem, permanecendo em repouso por 1 h, e para leitura de pH, foi utilizado um potenciômetro. Quanto à avaliação do N-NH<sub>3</sub>, em 60 mL de água destilada foram adicionados 10 gramas de silagem, dessa mistura aquoso obtida são retirados 10 mL em um tubo e são submetidos a centrifugação por 20 minutos. Do sobrenadante centrifugado, são retirados 2 mL e transferidos um para tubo de ensaio (Kjeldahl). Em seguida, foi adicionado 2 mL da solução de KOH e 5 mL de água destilada e assim procedeu-se com a destilação em aparelho Micro-Kjeldahl, seguindo os passos para determinação de proteína, a partir da destilação, contudo a titulação com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,2N.



**Figura 4.** Processamento das amostras no Laboratório de forragicultura (LABFOR) da UFPI

### 3.8 Determinação de estabilidade aeróbica da silagem realocada após de 90 dias da realocação

Para determinar a estabilidade aeróbica, a silagem foi transportada para uma sala fechada a uma temperatura controlada (25°C), e a temperatura ambiente da sala foi medida usando um termômetro colocado próximo à silagem. O material foi aberto e exposto ao ar por 96 horas.

Após a abertura das silagens nos horários indicados, a temperatura da superfície e a temperatura da massa da silagem foram monitoradas a cada 2 horas por um período de 96 horas ou até que a estabilidade aeróbica fosse quebrada. A temperatura da superfície da silagem foi determinada com um termômetro digital sem toque, enquanto a temperatura da massa de forragem foi determinada com um termômetro digital de imersão inserido a 10 cm no centro da silagem. A quebra da estabilidade aeróbica foi usando o tempo observado para que a silagem subisse 2°C após a exposição ao ar, em relação à temperatura ambiente, de acordo com Taylor e Kung Jr (2002).



**Figura 5 .** Determinação da temperatura na estabilidade aeróbica

### 3.8 Determinação do teor de ácidos orgânicos da silagem realocada

Uma parte de cada amostra coletada foi usada para analisar os ácidos orgânicos usando o método citado por Kung Jr. E Ranjit (2001): 10 ml da amostra foram diluídos a 10% em água destilada, acidificados com HSO a 50% e filtrados em papel de filtro Whatman. A 2 ml do material filtrado, foram adicionados 1 ml de ácido metafosfórico a 20% e 0,2 ml de ácido fênico a 0,1%. As amostras foram centrifugadas e os ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) foram analisados por cromatografia líquida de alto desempenho.

### 3.9 Análise estatística

Após a tabulação dos dados, as premissas de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram testadas usando os testes de Cramer-von Mises e Brown e Forsythe, respectivamente. Os resultados foram então submetidos a uma análise de variância usando o SAS 9.4 (Statistical Analysis System, 2013) com o procedimento PROC MIXED. As médias foram comparadas usando o teste de Tukey com um nível de probabilidade de 5%.

1) O modelo estatístico foi usado para avaliar a silagem de milho realocada:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + T_j + N_{ij} + e_{ij}$$

Onde  $Y_{ij}$  foi o valor de cada observação;  $\mu$ , a média geral;  $A_i$ , o efeito fixo dos aditivos (*lactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *lactobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *lactobacillus hilgardii* NCIMB 4785 e leite fermentado);  $T_j$ , o efeito fixo do tempo de realocação (15, 60 e 90 dias);  $N_{ij}$ , Interação aditivos e tempos;  $e_i$ , o erro padrão.

2) O modelo estatístico foi usado para avaliar a silagem de milho realocada no momento de estabilidade aeróbia.

$$Y_{ij} = \mu + A_i + e_{ij}$$

Onde  $Y_{ij}$  é o valor de cada observação;  $\mu$ , a média geral;  $TR_i$ , o efeito fixo dos aditivos (*lactobacillus buchneri* NCIMB 40788, *lactobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *lactobacillus hilgardii* NCIMB 4785 e leite fermentado);  $e_i$ , o erro padrão.

#### 4. RESULTADOS

Houve interação entre o efeito do aditivo e do tempo ( $A \times T$ ) ( $P < 0,05$ ) nas características microbiológicas e no pH das silagens de milho movimentadas, exceto no nível de leveduras (LEV) Tabela 2. As silagens realocadas tiveram iguais (5,98 ufc/g) contagem de bactérias lácticas (BAL) quando realocadas por 90 dias. As silagens tratadas com *lactobacillus buchneri* + *lactobacillus hilgardii* (LBLH) tiveram menor contagem de BAL que as demais quando por 15 dias de realocação.

Observou-se que não houve diferença entre as diferentes silagens realocadas, os diferentes tempos de realocação e na interação  $A \times T$  ( $P > 0,05$ ) contagem de leveduras (LEV). Houve diferença na interação  $A \times T$  ( $P < 0,05$ ) da contagem de mofos. No entanto as silagens tratadas com inoculantes e leite fermentado tiveram menor (contagem de mofos que SR quando realocação por 15 dias. As silagens realocadas SR tiveram menor contagem de mofos que as demais quando expostas por 90 dias. As silagens tratadas com LF tiveram maior contagem de mofos que as demais quando a realocação por 60 dias.

**Tabela 2.** Valores de pH e composição microbiológicas de silagens realocada de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado (ufc/g de MS)

| Aditivo     | Tempo (Dias)        |                     |                    | Média | EPM  | P-valor |       |       |
|-------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------|------|---------|-------|-------|
|             | 15                  | 60                  | 90                 |       |      | A       | T     | A x T |
| BAL (ufc/g) |                     |                     |                    |       |      |         |       |       |
| SR          | 3,57 <sup>ABb</sup> | 4,98 <sup>Aab</sup> | 5,98 <sup>Aa</sup> | 4,84  |      |         |       |       |
| LF          | 4,51 <sup>Aa</sup>  | 5,86 <sup>Aa</sup>  | 5,98 <sup>Aa</sup> | 5,45  |      |         |       |       |
| LB          | 4,02 <sup>Ab</sup>  | 4,67 <sup>Aab</sup> | 5,98 <sup>Aa</sup> | 4,89  | 0,24 | 0,16    | <0,01 | 0,03  |
| LBLH        | 2,00 <sup>Bb</sup>  | 5,92 <sup>Aa</sup>  | 5,98 <sup>Aa</sup> | 4,63  |      |         |       |       |
| Média       | 3,52                | 5,36                | 5,98               |       |      |         |       |       |
| LEV (ufc/g) |                     |                     |                    |       |      |         |       |       |
| SR          | 0,38                | 0,00                | 0,50               | 0,29  |      |         |       |       |
| LF          | 0,38                | 0,75                | 0,00               | 0,38  |      |         |       |       |
| LB          | 0,00                | 0,00                | 0,58               | 0,19  | 0,30 | 0,82    | 0,64  | 0,51  |
| LBLH        | 1,40                | 0,00                | 0,33               | 0,58  |      |         |       |       |
| Média       | 0,54                | 0,19                | 0,35               |       |      |         |       |       |

Continuação...

|       |                     | MOFOS (ufc/g)       |                     |      |      |       |       |       |  |
|-------|---------------------|---------------------|---------------------|------|------|-------|-------|-------|--|
| SR    | 5,42 <sup>Aa</sup>  | 3,54 <sup>Ab</sup>  | 0,00 <sup>Bc</sup>  | 2,99 |      |       |       |       |  |
| LF    | 2,98 <sup>Ba</sup>  | 3,58 <sup>Aa</sup>  | 0,85 <sup>ABb</sup> | 2,47 |      |       |       |       |  |
| LB    | 3,17 <sup>Ba</sup>  | 2,51 <sup>Aab</sup> | 1,17 <sup>ABb</sup> | 2,28 | 0,25 | 0,29  | <0,01 | <0,01 |  |
| LBLH  | 3,09 <sup>Ba</sup>  | 2,27 <sup>Aa</sup>  | 2,17 <sup>Aa</sup>  | 2,51 |      |       |       |       |  |
| Média | 3,66                | 2,97                | 1,05                |      |      |       |       |       |  |
|       |                     | pH                  |                     |      |      |       |       |       |  |
| SR    | 4,32 <sup>Aa</sup>  | 4,19 <sup>Aa</sup>  | 4,25 <sup>Aa</sup>  | 4,25 |      |       |       |       |  |
| LF    | 4,13 <sup>ABa</sup> | 4,19 <sup>Aa</sup>  | 4,27 <sup>Aa</sup>  | 4,19 |      |       |       |       |  |
| LB    | 4,15 <sup>ABa</sup> | 4,09 <sup>Aab</sup> | 3,90 <sup>Bb</sup>  | 4,04 | 0,02 | <0,01 | 0,05  | <0,01 |  |
| LBLH  | 4,00 <sup>Ba</sup>  | 4,08 <sup>Aa</sup>  | 3,93 <sup>Ba</sup>  | 4,00 |      |       |       |       |  |
| Média | 4,15                | 4,14                | 4,08                |      |      |       |       |       |  |

BAL- bactérias lácticas; LEV; Leveduras; ENTERO-Enterobactérias; pH- Potencial hidrogeniônico; SR- Silagem realocada sem inoculantes; LF – Leite fermentado; LB- *Lactobacillus buchneri*; LBLH -*lactobacillus buchneri* + *lactobacillus hilgardii*; Ufc- unidade formadora de colônia em log10, A- Aditivo, T – tempo de realocação, A x T – interação dos fatores. Letras maiúsculas comparam aditivos dentro de cada tempo e letras minúsculas comparam os tempos dentro de cada aditivos, onde letras iguais não diferem pelo teste de tukey (nível de significância P<0,05).

A interação A × T (P<0,05) indicou que houve diferença entre as diferentes silagens realocadas. As silagens realocadas sem inoculantes (SR) tiveram maior pH quando o tempo de realocação foi de 15 dias. Então, as silagens tratadas com inoculantes de *lactobacillus buchneri* (LB) e LBLH tiveram menor pH quando o tempo de realocação foi de 60, 90 dias.

Observa-se na Tabela 3, a interação A × T (P<0,05) que houve diferença na RMS (%) e para perdas por efluentes e gases. As silagens realocadas SR tiveram perdas de gases (PG) (% MS) (P<0,01) maior quando o T foi de 15 dias, e as silagens tratadas com LBLH tiveram menor quando T foi de 90 dias. As silagens tratadas com LBLH tiveram maior perdas de efluentes (PE) (kg/tonelada) que todas as silagens quando T foi de 15, 90 dias, as silagens SR tiveram menor PE (kg/tonelada) quando T foi de 15 dias. As silagens tratadas com LBLH tiveram maior índice de recuperação da matéria seca (RMS) (%) quando T foi de 15 dias e as silagens tratadas com LB tiveram maior (RMS) (%) quando T foi de 90 dias, mas as silagens tratadas com LF tiveram menor RMS (%) quando T foi de 15 dias

**Tabela 3.** Perdas por gases, efluentes e recuperação de matéria seca em silagens realocadas de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado

| Aditivo                      | Tempo (Dias)        |                      |                     | Média | PEM  | P-valor |      |       |
|------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-------|------|---------|------|-------|
|                              | 15                  | 60                   | 90                  |       |      | A       | T    | A x T |
| PG (% MS)                    |                     |                      |                     |       |      |         |      |       |
| SR                           | 0,77 <sup>Aa</sup>  | 0,49 <sup>Aab</sup>  | 0,24 <sup>ABb</sup> | 0,50  |      |         |      |       |
| LF                           | 0,00 <sup>Bb</sup>  | 0,05 <sup>Bb</sup>   | 0,42 <sup>Aa</sup>  | 0,16  |      |         |      |       |
| LB                           | 0,05 <sup>Ba</sup>  | 0,11 <sup>Ba</sup>   | 0,04 <sup>Ba</sup>  | 0,07  | 0,06 | <0,01   | 0,64 | <0,01 |
| LBLH                         | 0,14 <sup>Ba</sup>  | 0,14 <sup>ABa</sup>  | 0,00 <sup>Ba</sup>  | 0,09  |      |         |      |       |
| Média                        | 0,24                | 0,20                 | 0,18                | 0,20  |      |         |      |       |
| PE (kg/tonelada de silagem). |                     |                      |                     |       |      |         |      |       |
| SR                           | 3,94 <sup>Bb</sup>  | 5,72 <sup>Aa</sup>   | 5,93 <sup>Aa</sup>  | 5,20  |      |         |      |       |
| LF                           | 6,30 <sup>Aa</sup>  | 6,02 <sup>Aa</sup>   | 5,84 <sup>Aa</sup>  | 6,05  |      |         |      |       |
| LB                           | 5,60 <sup>Aa</sup>  | 6,09 <sup>Aa</sup>   | 5,86 <sup>Aa</sup>  | 5,85  | 0,23 | 0,02    | 0,35 | 0,02  |
| LBLH                         | 6,52 <sup>Aa</sup>  | 5,62 <sup>Aa</sup>   | 6,36 <sup>Aa</sup>  | 6,17  |      |         |      |       |
| Média                        | 5,59                | 5,86                 | 6,00                | 5,82  |      |         |      |       |
| RMS (%MS)                    |                     |                      |                     |       |      |         |      |       |
| SR                           | 94,78 <sup>Aa</sup> | 92,98 <sup>Aab</sup> | 90,80 <sup>Bb</sup> | 92,85 |      |         |      |       |
| LF                           | 88,65 <sup>Ba</sup> | 91,74 <sup>Aa</sup>  | 91,80 <sup>Ab</sup> | 90,73 |      |         |      |       |
| LB                           | 95,48 <sup>Aa</sup> | 92,67 <sup>Aa</sup>  | 95,74 <sup>Aa</sup> | 94,63 | 0,62 | <0,01   | 0,61 | 0,02  |
| LBLH                         | 95,98 <sup>Aa</sup> | 94,51 <sup>Aa</sup>  | 95,63 <sup>Aa</sup> | 95,37 |      |         |      |       |
| Média                        | 93,72               | 92,98                | 93,49               | 93,39 |      |         |      |       |

Letras maiúsculas comparam os aditivos dentro de cada tempo e letras minúsculas comparam os tempos dentro de cada tratamento, onde letras iguais não diferem pelo teste de Tukey (nível de significância  $P < 0,05$ ). SR- Silagem realocada sem inoculantes; LF – Leite fermentado; LB- Lactobacillus buchneri ; LBLH -lactobacillus buchneri + lactobacillus hilgardii ; PE- Perdas por efluentes (Kg/tonelada de MS); PG- Perdas por gases (%MS); RMS- Índice de recuperação da matéria seca (%); EPM- Erro padrão da média; Lactobacillus buchneri, A- Aditivo; T- tempo de realocação; A x T – interação dos fatores.

Em relação à composição química (Tabela 4), as silagens tratadas com LBLB tiveram maior teor de MS que as silagens realocadas SR, e tratadas com LB e LF quando o tempo (T) foi de 15 dias, mas todas as silagens tratadas tiveram maior teor de MS do que as silagens SR quando T foi de 90 dias. A interação A x T ( $P < 0,05$ ) que houve diferença na MM (%), as silagens tratadas com LF tiveram maior teor de MM que todos os tratamentos quando T foi de 15, 60, 90 dias, mas as silagens LBLH

tiveram teor de MM igual ao tempo de realocação (60,90 dias). As silagens realocada SR tiveram maior teor de FDN, e tratadas com LBLH tiveram menor FDN. As silagens tratadas com LB tiveram maior teor de FDN, e tratadas com LBLH tiveram menor.

A interação  $A \times T$  ( $P < 0,01$ ) indicou que houve diferença na PB, às silagens com LB tiveram maior teor de PB do que as SR, e as tratadas com LBLH e LF quando T foi de 90 dias. As silagens SR tiveram teor de PB semelhante às silagens tratadas com LF, LB, LBLH somente quando T foi de 15 dias. As silagens tratadas com LF tiveram teor de PB maior quando o T foi de até 60 dias, e menor quando T foi de 15 dias. A interação  $A \times T$  ( $P < 0,01$ ) indicou que houve diferença na EE, as silagens tratadas com LF tiveram menor teor de EE do que as silagens SR quando T foi de 90 dias, mas quando T foi de 15 dias, todas as silagens tratadas tiveram menor teor de EE que as silagens realocadas SR. As silagens tratadas com LB tiveram maior teor de EE quando T foi de 90 dias. Essa tendência dos dados não foi observada nas silagens SR, e silagens tratadas com LF, LB e LBLH, as quais tiveram teores de EE variáveis nos Tempos.

**Tabela 4.** Composição química e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) de silagens realocada de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado (g/kg de MS)

| Aditivo         | Tempo (Dias)       |                     |                    | Média               | EPM  | P-valor |       |       |
|-----------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|------|---------|-------|-------|
|                 | 15                 | 60                  | 90                 |                     |      | A       | T     | A x T |
| MS (g/kg)       |                    |                     |                    |                     |      |         |       |       |
| SR              | 234,1              | 231,3               | 224,2              | 229,9 <sup>AB</sup> |      |         |       |       |
| LF              | 223,4              | 223,35              | 225,85             | 224,00 <sup>B</sup> |      |         |       |       |
| LB              | 235,9              | 226,3               | 231,7              | 231,3 <sup>AB</sup> | 1,99 | <0,05   | 0,06  | 0,21  |
| LBHA            | 238,00             | 226,1               | 234,4              | 232,8 <sup>A</sup>  |      |         |       |       |
| Média           | 232,9              | 226,7               | 229,00             | 229,6               |      |         |       |       |
| MM (g/kg de MS) |                    |                     |                    |                     |      |         |       |       |
| SR              | 29,5 <sup>Aa</sup> | 27,5 <sup>Aab</sup> | 26,7 <sup>Ab</sup> | 27,9                |      |         |       |       |
| LF              | 27,6 <sup>Aa</sup> | 28,9 <sup>Aa</sup>  | 27,7 <sup>Aa</sup> | 28,1                |      |         |       |       |
| LB              | 25,3 <sup>Ba</sup> | 23,2 <sup>Bb</sup>  | 22,5 <sup>Bb</sup> | 23,7                | 0,32 | <0,01   | <0,01 | 0,04  |
| LBHA            | 24,9 <sup>Ba</sup> | 23,2 <sup>Ba</sup>  | 23,2 <sup>Ba</sup> | 23,8                |      |         |       |       |
| Média           | 26,8               | 25,7                | 25,00              | 25,9                |      |         |       |       |

Continuação...

|       |                    | FDN (g/kg de MS)    |                     |                     |      |       |       |       |  |
|-------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|-------|-------|-------|--|
| SR    | 485,3              | 473,2               | 509,2               | 489,2 <sup>A</sup>  |      |       |       |       |  |
| LF    | 503,9              | 478,8               | 481,2               | 488,00 <sup>A</sup> |      |       |       |       |  |
| LB    | 471,2              | 474,4               | 476,00              | 473,9 <sup>A</sup>  | 5,75 | <0,01 | 0,07  | 0,19  |  |
| LBHA  | 463,9              | 435,1               | 451,7               | 450,2 <sup>B</sup>  |      |       |       |       |  |
| Média | 481,1              | 465,4               | 479,5               | 475,3               |      |       |       |       |  |
|       |                    | FDA (g/kg de MS)    |                     |                     |      |       |       |       |  |
| SR    | 250,7              | 259,8               | 277,1               | 262,5 <sup>AB</sup> |      |       |       |       |  |
| LF    | 271,2              | 264,1               | 26,34               | 266,2 <sup>A</sup>  |      |       |       |       |  |
| LB    | 259,9              | 270,8               | 272,2               | 267,6 <sup>A</sup>  | 4,78 | <0,05 | 0,45  | 0,34  |  |
| LBHA  | 254,4              | 239,9               | 248,5               | 247,6 <sup>B</sup>  |      |       |       |       |  |
| Média | 259,00             | 258,6               | 265,3               | 261                 |      |       |       |       |  |
|       |                    | PB (g/kg de MS)     |                     |                     |      |       |       |       |  |
| SR    | 66,0 <sup>Aa</sup> | 68,4 <sup>ABa</sup> | 68,90 <sup>Ba</sup> | 67,8                |      |       |       |       |  |
| LF    | 66,2 <sup>Ab</sup> | 72,5 <sup>Aa</sup>  | 70,0 <sup>Bab</sup> | 69,6                |      |       |       |       |  |
| LB    | 63,4 <sup>Ab</sup> | 64,00 <sup>Bb</sup> | 75,7 <sup>Aa</sup>  | 67,7                | 0,85 | 0,38  | <0,01 | <0,01 |  |
| LBHA  | 64,2 <sup>Ab</sup> | 65,9 <sup>Bb</sup>  | 73,7 <sup>ABa</sup> | 67,9                |      |       |       |       |  |
| Média | 65,00              | 67,7                | 72,1                | 68,2                |      |       |       |       |  |
|       |                    | EE (g/kg de MS)     |                     |                     |      |       |       |       |  |
| SR    | 32,7 <sup>A</sup>  | 31,00 <sup>A</sup>  | 28,5 <sup>AB</sup>  | 30,7                |      |       |       |       |  |
| LF    | 32,2 <sup>A</sup>  | 31,9 <sup>A</sup>   | 27,3 <sup>B</sup>   | 30,5                |      |       |       |       |  |
| LB    | 32,6 <sup>A</sup>  | 22,9 <sup>B</sup>   | 35,7 <sup>A</sup>   | 30,4                | 1,11 | 0,60  | 0,16  | <0,01 |  |
| LBHA  | 32,4 <sup>A</sup>  | 33,8 <sup>A</sup>   | 30,7 <sup>AB</sup>  | 32,3                |      |       |       |       |  |
| Média | 32,5               | 30,6                | 29,9                | 31,00               |      |       |       |       |  |
|       |                    | CST (g/kg de MS)    |                     |                     |      |       |       |       |  |
| SR    | 69,5               | 61,8                | 62,1                | 64,5                |      |       |       |       |  |
| LF    | 69,8               | 61,8                | 61,8                | 64,5                |      |       |       |       |  |
| LB    | 69,6               | 66,7                | 63,6                | 66,6                | 1,10 | 0,35  | <0,01 | 0,79  |  |
| LBLH  | 71,00              | 65,8                | 62,1                | 66,3                |      |       |       |       |  |
| Média | 70,0 <sup>a</sup>  | 64,00 <sup>b</sup>  | 62,4 <sup>b</sup>   | 65,5                |      |       |       |       |  |

Continuação...

| CaTp (g/kg de MS)              |                   |                    |                   |       |      |       |       |       |
|--------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------|------|-------|-------|-------|
| SR                             | 245,6             | 253,5              | 291,7             | 263,6 |      |       |       |       |
| LF                             | 261,9             | 291,1              | 255,9             | 269,6 |      |       |       |       |
| LB                             | 249,5             | 276,7              | 249,1             | 258,4 | 8,22 | 0,35  | 0,20  | 0,16  |
| LBLH                           | 271,00            | 272,8              | 292,8             | 278,9 |      |       |       |       |
| Média                          | 257,0             | 273,5              | 272,4             | 267,6 |      |       |       |       |
| N-NH <sub>3</sub> (g/kg de MS) |                   |                    |                   |       |      |       |       |       |
| SR                             | 26,8 <sup>A</sup> | 26,4 <sup>A</sup>  | 27,2 <sup>A</sup> | 26,8  |      |       |       |       |
| LF                             | 33,1 <sup>A</sup> | 25,5 <sup>B</sup>  | 25,8 <sup>B</sup> | 28,1  |      |       |       |       |
| LB                             | 37,6 <sup>A</sup> | 30,9 <sup>A</sup>  | 20,5 <sup>B</sup> | 29,7  | 1,12 | <0,05 | <0,01 | <0,01 |
| LBLH                           | 32,8 <sup>A</sup> | 24,00 <sup>B</sup> | 16,6 <sup>C</sup> | 24,5  |      |       |       |       |
| Média                          | 32,6              | 26,7               | 22,5              | 27,3  |      |       |       |       |

Médias seguidas por letras minúsculas nas linhas diferem entre os tratamentos pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ). SR- Silagem realocada sem inoculantes; LF - Leite fermentado; LB- *Lactobacillus buchneri* ; LBLH -*lactobacillus buchneri* + *lactobacillus hilgardii* ; MS - Matéria seca; MM - Matéria mineral; EE - Extrato etéreo; PB - Proteína bruta; FDN - Fibra em detergente neutro; FDA- Fibra detergente ácido; N-NH<sub>3</sub> - Nitrogênio amoniacal; CST - Carboidratos solúveis totais; CaTp- Capacidade de tampão; EPM- Erro padrão da média; A interação ( $P < 0,05$ ) A × T indicou que todas as silagens realocadas tiveram maior valores EE quando o T foi 15,60 dias, exceptou as silagens tratadas com LB tiveram maior valor de EE quando T foi a 90 dias.

Observou-se que não houve diferença entre as diferentes silagens realocadas e na interação A x T ( $P > 0,05$ ) para o parâmetro de carboidratos solúveis totais (CST), mas tem uma diferença entre os diferentes tempos de realocação. O melhor tempo (T) de realocação foi registrado no 15º dia com valor de 70 g/kg de MS. Não houve diferença estatística entre as diferentes silagens realocadas, os diferentes tempos e na interação A x T ( $P > 0,05$ ) para o parâmetro de capacidade de tampão (CaTp). A interação A × T ( $P < 0,05$ ) indicou que houve diferença, as silagens realocadas sem inoculantes SR tiveram maior de N-NH<sub>3</sub> que todos as silagens tratadas quando o T foi de 90 dias, e quando T foi de 15 dias as silagens sem inoculantes SR tiveram menor de N-NH<sub>3</sub> que todos as silagens tratadas.

A interação A × T ( $P < 0,05$ ) indicou que às silagens realocadas houve efeito para concentração de ácido láctico (AL) (Tabela 6). As silagens tratadas com LB e LBHA tiveram maior concentração de ácido láctico que as silagens sem inoculantes SR e tratadas com LF quando o tempo de realocação foi de 15 e 60 dias. As silagens

tratadas com LB, LBHA e LF tiveram concentração de ácido acético semelhante ( $P>0,05$ ) as silagens SR quando o tempo de realocação foi de 15, 60 e 90 dias.

**Tabela 5.** Ácidos orgânicos de silagens realocadas de milho tratadas com inoculantes e leite fermentado (g/kg MS)

| Aditivo                    | Tempo (Dias)         |                      |                      | Média | EPM  | P-valor |       |       |
|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------|------|---------|-------|-------|
|                            | 15                   | 60                   | 90                   |       |      | A       | T     | A x T |
| Ácido láctico (g/kg MS)    |                      |                      |                      |       |      |         |       |       |
| SR                         | 18,75 <sup>Bb</sup>  | 20,79 <sup>Bb</sup>  | 28,81 <sup>Aa</sup>  | 22,78 |      |         |       |       |
| LF                         | 27,41 <sup>Aa</sup>  | 23,93 <sup>ABa</sup> | 21,90 <sup>Ba</sup>  | 24,41 |      |         |       |       |
| LB                         | 26,35 <sup>Aab</sup> | 28,36 <sup>Aa</sup>  | 20,53 <sup>Bb</sup>  | 25,08 | 1,01 | 0,35    | 0,054 | <0,01 |
| LBLH                       | 18,49 <sup>Bb</sup>  | 30,69 <sup>Aa</sup>  | 26,13 <sup>ABa</sup> | 25,10 |      |         |       |       |
| Média                      | 22,75                | 25,94                | 24,34                | 24,35 |      |         |       |       |
| Ácido acético (g/kg MS)    |                      |                      |                      |       |      |         |       |       |
| SR                         | 47,84                | 51,61                | 53,72                | 51,06 |      |         |       |       |
| LF                         | 53,36                | 55,59                | 55,89                | 54,95 |      |         |       |       |
| LB                         | 50,85                | 56,56                | 53,16                | 53,52 | 2,32 | 0,69    | 0,41  | 0,99  |
| LBLH                       | 52,32                | 54,36                | 54,78                | 53,82 |      |         |       |       |
| Média                      | 51,09                | 54,53                | 54,39                | 53,34 |      |         |       |       |
| Ácido propiônico (g/kg MS) |                      |                      |                      |       |      |         |       |       |
| SR                         | 13,94                | 9,92                 | 9,00                 | 10,95 |      |         |       |       |
| LF                         | 4,92                 | 11,65                | 7,54                 | 8,04  |      |         |       |       |
| LB                         | 7,28                 | 7,10                 | 8,53                 | 7,64  | 0,97 | 0,06    | 0,64  | 0,08  |
| LBLH                       | 8,09                 | 7,86                 | 6,97                 | 7,64  |      |         |       |       |
| Média                      | 8,56                 | 9,13                 | 8,01                 | 8,57  |      |         |       |       |
| Ácido butírico (g/kg MS)   |                      |                      |                      |       |      |         |       |       |
| SR                         | 10,24                | 6,84                 | 7,13                 | 8,07  |      |         |       |       |
| LF                         | 7,35                 | 8,97                 | 8,46                 | 8,26  |      |         |       |       |
| LB                         | 6,63                 | 7,71                 | 8,26                 | 7,53  | 0,74 | 0,64    | 0,95  | 0,44  |
| LBLH                       | 7,36                 | 7,12                 | 6,62                 | 7,03  |      |         |       |       |
| Média                      | 7,89                 | 7,66                 | 7,62                 | 7,72  |      |         |       |       |

SR- Silagem realocada sem inoculantes; LF – Leite fermentado; LB- *Lactobacillus buchneri* NCIMB 40788; LBLH -*lactobacillus buchneri* NCIMB 407887+ *lactobacillus hilgardii* NCIMB 4785; A- Aditivo. Letras maiúsculas comparam os aditivos, onde letras iguais não diferem pelo teste de tukey (nível de significância  $P<0,05$ ).

A interação A × T (P > 0,05) indicou que as silagens realocadas não houve efeito para concentração de ácido propiônico e ácido butírico. As silagens tratadas com LB, LBHA e LF tiveram concentração de ácido butírico e ácido propiônico semelhante (P>0,05) as silagens SR quando o tempo de realocação foi de 15, 60 e 90 dias (Tabela 5).

**Tabela 6.** Valores de pH e estabilidade aeróbia (EA) de silagens de milho realocadas armazenadas por 90 dias sob exposição aeróbia

| Aditivo | pH                 | EA(h)             | Temperatura (°C) |
|---------|--------------------|-------------------|------------------|
| SR      | 4,22 <sup>A</sup>  | 12 <sup>B</sup>   | 27               |
| LF      | 4,10 <sup>AB</sup> | 3,5 <sup>C</sup>  | 27               |
| LB      | 4,02 <sup>AB</sup> | 31,5 <sup>A</sup> | 27               |
| LBHA    | 4,04 <sup>AB</sup> | 28 <sup>A</sup>   | 27               |
| EPM     | 0,043              | 1,53              | 0,00             |
| P-valor | <0,01              | <0,01             |                  |

SR- Silagem realocada sem inoculantes; LF – Leite fermentado; LB- *lactobacillus buchneri* NCIMB 40788; LBLH -*lactobacillus buchneri* NCIMB 40788+ *lactobacillus hilgardii* NCIMB 4785; EA- tempo em estabilidade aeróbia; A- Aditivo. Letras maiúsculas comparam os aditivos, onde letras iguais não diferem pelo teste de tukey (nível de significância P<0,05).

A Tabela 5 apresenta os valores de pH e estabilidade aeróbia (EA) durante os dias de exposição aeróbia das silagens realocadas de milho (90 dias). Observa-se (P<0,05) que houve diferença na quebra de estabilidade aeróbica. As silagens realocadas tratadas com LBHA e LB apresentaram melhores de estabilidade 28 e 31,5 horas, respectivamente. As silagens tratadas com LF apresentaram 3,5 horas de estabilidade aeróbica, menor valor entre os tratamentos. O pH no momento da quebra (P<0,01) apresentou diferença entre os tratamentos, às silagens tratadas com LB apresentaram menor valor de pH (4,02), seguidos pelas os aditivos LBLH e LF, com 4,04 e 4,10, respectivamente.

## 5. DISCUSSÃO

A aplicação dos inoculantes *lactobacillus buchneri* NCIMB 40788 e *lactobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *lactobacillus hilgardii* NCIMB 4785, no momento da realocação de silagem, aumentou a RMS de silagens de milho

em comparação a silagem sem aditivo e com leite fermentado. O armazenamento das silagens realocadas durante 90 dias apresentaram melhores resultados para a atuação dos inoculantes comerciais em comparação com 60 dias. As maiores médias de RMS observada para as silagens realocadas inoculadas com LB e LBLH podem ser explicadas principalmente pelos valores favoráveis de pH, que foram observados entre 3,8 e 4,2, em todos os tempos, como dentro do recomendado por (Kung et al., 2003).

O baixo pH das silagens de milho reflete maior atividade de BAL homofermentativas, que convertem substratos solúveis em AL, considerado um ácido forte, reduzindo o pH da massa ensilada. Essas bactérias seguem uma rota metabólica primariamente baseada na glicólise, onde convertem açúcares, como glicose, quase exclusivamente em AL, sem produção significativa de gases (McDonald et al., 1991), sendo, desta forma, observado menores valores para a variável perdas por gases no presente estudo.

É importante observar que o pH da silagem de milho, após a abertura do silo foi de 4,2 (Tabela 1). Tal fato indica que os LB e LBLH mesmo aplicados no momento da realocação da ensilagem foram responsáveis pela estabilização e até queda do pH, confirmado pela redução nos teores de CST, de 75,6 para 65,5 g/kg de MS, e pelos aumentos dos níveis AL, de 18,54 (Tabela 1) para 25 g/kg de MS54 (Tabela 6), comparando valores da silagem no momento da abertura e da silagem realocada, respectivamente.

Os resultados indicam uma continuidade da fermentação heterolática, evidenciada pelos aumentos nos teores de AA antes e após a realocação, passando de 46,81 g/kg para 53,34 g/kg (média geral), respectivamente. Observa-se uma tendência de aumento do AA em silagens realocadas (Chen e Weinberg, 2014; Anjos et al., 2017) quando comparadas às silagens normais, frequentemente apresentando teores superiores ao AL. Estudos (Kandler et al., 1983; Lindgren et al., 1990; London, 1968; Murphy e Condon, 1984) demonstram que algumas cepas homoláticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bifementans* e *Streptococcus faecium*), encontradas naturalmente, sob condições anaeróbicas e em baixas concentrações de CST, como ocorre em silagens realocadas já submetidas ao processo fermentativo, podem produzir ácido fórmico e AA utilizando o AL como substrato. Assim, os resultados sugerem que, mesmo em silagens realocadas inoculadas com cepas

heteroláticas (LB e LBLH), o efeito da produção de ácido acético foi ocultado devido às condições relatadas pelos autores.

O AA é reconhecidamente uma substância com propriedades antifúngicas, capaz de inibir o desenvolvimento de microrganismos deletérios à qualidade da silagem e, conseqüentemente, elevar a estabilidade aeróbia da massa ensilada ((Danner et al., 2003), (Kung et al., 2018), (Muck et al, 2018)). Entretanto, apensar da similaridade dos teores de AA nas silagens realocadas foram observados efeitos favoráveis dos inoculantes LB e LBLH na estabilidade aeróbia. Além disso, os inoculantes comerciais avaliados contribuem para o aumento da estabilidade aeróbica das silagens realocadas, reforçando melhor eficácia no controle de deterioradores.

O controle eficiente do pH pelas silagens com LB e LBLH impediu o crescimento de microrganismos deterioradores, especialmente em condições aeróbicas. Apesar de não ser identificado diminuições de mofos e leveduras, o pH baixo potencializa os efeitos dos ácidos em desacelerar o crescimento de microrganismos aeróbicos de deterioração podendo melhorar a EA (Muck et al, 2010). Outros autores (McDonald et al, 1991; Weinberg, Muck, 1996; Driehuis, Oude, Van Wikselaar. 2001) também apontam que o controle do pH limita a atividade metabólica desses microrganismos, reduzindo a produção de calor e evitando a deterioração aeróbica. Desta forma, o presente estudo demonstra que a silagem realocada com LB e LBLH com 15 dias de abertura reduziu o pH e manteve mais próximo de 4,0, além de apresentar tempo mais prolongado com temperatura estável após a exposição ao oxigênio. Assim, mesmo a exposição ao oxigênio aumentando o risco de elevação do pH, que favorece o crescimento de leveduras e mofos, a silagem com submetida ao tratamento com inoculante manteve o pH controlado reduzindo o tempo de vulnerabilidade para quebra da estabilidade aeróbia. O que explica a influência do uso de inoculantes no processo de fermentação e na conservação de massa ensilada.

Outra elucidação para o efeito benéfico dessas cepas de microrganismos (LB e LBLH) pode ser atribuídos à sua capacidade de produzir substâncias antimicrobianas secundárias, como bacteriocinas e metabólitos específicos, além dos ácidos acético e o propiônico, em que a interação desses compostos pode ter inibido a atividade de leveduras e enterobactérias, mesmo que as contagens gerais não tenham sido alteradas de forma estatisticamente significativa (Yildirim, 2001; LI et al., 2020; OKOYE et al., 2023).

Durante o processo de fermentação no silo, as bactérias presentes, provavelmente, liberaram água durante o metabolismo, e por isso o teor de MS das silagens realocadas foi menor do que o das silagens não realocadas. As silagens realocadas tratadas com LBHA quando realocadas após 15 e 90 dias provavelmente tiveram maior teor de MS, porque tiveram menores perdas de MS, e por isso provavelmente eram de maior qualidade do que as silagens realocadas não tratadas. A concentração de substratos para a fermentação, provavelmente era baixa e o teor de MS mais alto, logo as condições para o eficiente processo fermentativo não eram ideais (Kung et al., 2018).

A proteína (PB) diminuiu com a abertura da silagem realocada, entretanto com os inoculantes LB e LBHA a diminuição foi menor que o teor de PB após 90 dias da realocação no tratamento controle, justificada pela baixa concentração de N-NH<sub>3</sub> e provavelmente baixo teor de nitrogênio solúvel (Kung et al., 2018). Esse baixo valor de N-NH<sub>3</sub> (Tabela 4) indica que houve menor proteólise nessas silagens com os inoculantes comerciais.

Observou-se aumento de FDN e FDA nas silagens realocadas exceto no nível das silagens tratadas com LBHA, explicado pela redução no teor de matéria seca das silagens estudadas. Em estudo sobre exposição aeróbica Velho et al., (2006) relataram que atrasos crescentes a exposição ao ar após a abertura dos silos aumenta as proporções de FDN fibras detergentes neutra para silagem.

Foram observadas interações nos resultados de EE durante a realocação da silagem. As alterações nos níveis de EE podem dever-se à atividade dos fungos, que decompõem as complexas estruturas de carbono dos materiais orgânicos para satisfazer as suas necessidades de carbono e nitrogênio para o desenvolvimento (Lange, 2017).

Assim, a utilização dos inoculantes *Lentilactobacillus buchneri* (NCIMB 40788) e *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 + *Lentilactobacillus hilgardii* NCIMB 4785 no momento da realocação de silagens da planta inteira do milho demonstram resultados superiores em termos de recuperação de matéria seca e preservação de nutrientes, quando comparada à adição de leite fermentado ou à ausência de tratamento, durante 15, 60 e 90 dias de armazenamento avaliados. Além disso, os inoculantes comerciais avaliados contribuem para o aumento da estabilidade aeróbica das silagens realocadas, reforçando melhor eficácia no controle de deterioradores.

Apesar dos resultados positivos, são necessários estudos adicionais para fornecer evidências mais robustas sobre os efeitos primários dos inoculantes microbiológicos. Por outro lado, o uso de leite fermentado como aditivo não é recomendado, devido à sua piora na eficácia da ensilagem realocada.

## 6. CONCLUSÃO

A aplicação do inoculante *Lentilactobacillus buchneri* (NCIMB 40788) na realocação de silagens da planta inteira do milho até 90 dias após a abertura do silo demonstra resultados superiores em termos de recuperação de matéria seca e preservação de nutrientes.

Essa conclusão demonstra potencial do uso de inoculantes específicos no momento da realocação da silagem, evidenciando sua capacidade de melhorar a qualidade e a estabilidade aeróbica. Além disso, este estudo fornece uma base estratégica para futuras pesquisas que busquem aprofundar a compreensão sobre o mecanismo de atuação de inoculantes em silagens realocadas.

## 7. REFERÊNCIAS

ADESOGAN, A. T. Corn silage quality in tropical climates (Qualidade da silagem de milho em climas tropicais). In: SIMPÓSIO SOBRE A GESTÃO ESTRATÉGICA DE PASTAGENS. **Annales de l'UFV**, p. 311-327, 2010.

ARRIOLA, K. G.; OLIVEIRA, A. S.; JIANG, Y.; KIM, D.; SILVA, H. M.; KIM, S. C.; AMARO, F. X.; OGUNADE, I. M.; SULTANA, H.; CERVANTES, A. A. P.; FERRARETTO, L. F.; VYAS, D.; ADESOGAN, A. T. Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p.7653-7670, 2021.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**, 16 th, 3. ed. AOAC, Gaithersburg, MD. 1997.

BERNARDES, T.F.; RÊGO, A.C. Estudo das práticas de produção e utilização de silagem em fazendas leiteiras brasileiras. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.1852-1861, 2014.

BOLSEN, K. K.; LIN, C.; BRENT, B. E.; FEYERHERM, A. M.; URBAN, J. E.; AIMUTIS, W.R. Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages (Efeitos dos aditivos de silagem na sucessão microbiana e no processo de fermentação de silagens de alfafa e milho). **Journal of Dairy Science**, v.75, p.3066-3083, 1992.

BUSO, W.H.D.; MACHADO, A.S.; RIBEIRO, T.B.; SILVA, L.O. Produção e composição bromatológica da silagem de milho híbrido sob duas alturas de corte. **Revista de Agricultura Neotropical**, v.5, n.4, p.74-80, 2018.

CHEN, Y.; WEINBERG, Z.G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality (O efeito da realocação de silagens de trigo e milho de safra inteira em sua qualidade). **Journal of Dairy Science**, v.97, p.406-410, 2014.

COAN, R.M.; VIEIRA, P.F.; SILVEIRA, R.N.; REIS, R.A.; MALHEIROS, E.B.; PEDREIRA, M.S. Inoculante enzimático-bacteriano, composição química e parâmetros fermentativos de silagens de capins Tanzânia e Mombaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.416-424, 2005.

COELHO, M.M.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; KELLER, K.M.; DOS ANJOS, G.V.S.; OTTONI, D.; MICHEL, P.H.F.; JAYME, D.G. Características químicas, estabilidade aeróbia e contagens microbiológicas em silagem de milho reensilada com inoculante bacteriano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. n.53, p.1045-1052, 2018.

COUTO, C.A.; SILVA, E.M.; SILVA, A.G.; OLIVEIRA, M.T.P.; VASCONCELOS, J.C.; SILVA, A.R.; SOBREIRA, E.A.; MOURA, J.B. Desempenho de cultivares de milho para produção de milho verde e silagem. **Revista de Ciências Sociais, Tecnológicas e Ambientais**, v.6, n.1, p.232-251, 2017.

DALL'AGNOL, E.; ZENI, M.; FONTANELI, R.; BONDAN, C. Misturas de cereais de inverno de duplo propósito para silagem de planta inteira. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v.11, n.8, 2022.

DA SILVA, E.; SMITH, M.; SAVAGE, R.; POLUKIS, S.; DROUIN, P.; KUNG, L.JR. Efeitos de *Lactobacillus hilgardii* 4785 e *Lactobacillus buchneri* 40788 na comunidade bacteriana, fermentação e estabilidade aeróbica de silagem de milho de alta umidade. **Journal of Applied Microbiology**, v.130, p.1481-1493, 2021.

DE SOUZA, A.E.; DOS REIS, J.G.M.; RAYMUNDO, J.C.; PINTO, R.S. Um estudo da produção de milho no Brasil: regiões produtoras, exportações e perspectivas. **Revista da Sociedade Sul-Americana de Desenvolvimento**, v.4, n.11, p.182-194, 2018.

DER BEDROSIAN, M.C.; NESTOR, K.E.; KUNG JR, L. The effects of hybrid, maturity and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. **Journal of dairy science, Champaign**, v. 95, n.9, p. 5115-5126, 2012.

DETMANN, E.; SILVA, L.F.C.; ROCHA, G. C.; PALMA, M.N.N.; RODRIGUES, J.P.P. Méthodes d'analyse des aliments. **Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Animais**, p.350, 2021.

DIEPERSLOOT, E.C.; MATHEUS, R. P.; LUCAS, G.G.; JESSICA, O.G.; CELSO, H. JR.; CODY, L.M.; MARCELO, O.W.; LUIZ F. F. Effects of Microbial Inoculation and Storage Length on Fermentation Profile and Nutrient Composition of Whole-Plant Sorghum Silage of Different Varieties. **Frontiers in Microbiology**, v.12 ,2021

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. Effect of re-silage on sorghum silage quality. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.7, 2018.

DRIEHUIS, F.; VAN WIKSELAAR, P.G. Effects of formic, acetic or propionic acid to maize silage and low dry matter grass silage on the microbial flora and aerobic stability. In: **Proceedings of the 11th International Silage Conference**. University of Wales, Aberystwyth, Wales. pp. 256-257,1996.

DRIEHUIS, F. S. J. W. H.; OUDE ELFERINK, P. G.; VAN WIKSELAAR. 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.

DUBOIS, M.K.A.; GILLES, J.K.; HAMILTON, P. A.; REBERS; SMITH F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances . **Analytical Biochemistry**, v.28, n.3, p.350-356, 1956.

FACTORI, M.A.; COSTA, C.P.R.L.; MEIRELLES, K.; OLIVEIRA, L.A.; ROSALES, G.J.; MORAES, H.C.G. Degradabilidade ruminal de híbridos de milho em função do estágio de colheita e processamento na ensilagem. **Boletim de Indústria Animal**, v.65, p.259–273, 2008.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. Produção de milho. **Guaíba: Agropecuária**. p.360, 2000.

FARIA, C.P.; BENEDET, H.D.; GUERROUE, J.R. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesq.agropec. bras.**, v.41, n.3, p.511-516, 2006.

FASOLO, D.J.; CARVALHO, A.F.G. Uso de diferentes inoculantes bacterianos isolados e em associação para silagem de milho. **Revista Técnico-Científica do CREA-PR**, v.27, p.1-20, 2021.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Revisão da silagem: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting (Avanços recentes e tecnologias futuras para colheita de silagem de milho inteira e fracionada). **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3937-3951, 2018.

FERREIRA, C.L.L.F. Produtos lácteos fermentados (aspectos bioquímicos e tecnológicos). **Caderno Didático Editora UFV**, v.2, 2001.

FERREIRA, D.F. Sisvar: sistema computacional para análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FILYA, I.; ASHBELL, G.; CHEN, Y.; WEINBERG, Z.G. The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.88, p.39-46, 2000.

FURTADO, R.N.; CARNEIRO, M.S.D.S.; COUTINHO, D.N.; CÂNDIDO, M.J.D.; SILVA, E. B.D. Perdas fermentativas e composição química da silagem de capim-elefante suplementada com casca de mamona. **Revista Ciência Agronômica**, v.50, n.1, p.140-147, 2019.

GONZÁLEZ, G.; RODRÍGUEZ, A.A. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability and forage intake of tropical fats ensiled in round bales. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.3, p.926-933, 2003.

HEINL, S.; KATHARINA, S.; REINGARD, G. Direct cloning in *Lactobacillus plantarum*: Electroporation with non-methylated plasmid DNA enhances transformation efficiency and makes shuttle vectors obsolete. **Microbial Cell Factories**, v.11, n.141, 2012.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade de forragens conservadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.101-119, 2007.

KANDLER, O.; SCHILLINGER, U; WEISS, N. *Lactobacillus bifermentans* sp. nov. nom. rev., an organism forming CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> from lactic acid. **Systematic and Applied Microbiology**, v.4, p.408-412, 1983

KRISTENSEN, N. B; SLOTH, K. H; HOJBERG, O; SPLIID, N. H., JENSESN, C; Thogersen, R. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *J. Dairy. Sci.* v.93, p.3764 -3774, 2010.

KROONEMAN, J.; FABER, F.; ALDERKAMP, A. C.; OUDE ELFERINK, S. J. H. W.; DRIEHUIS, F.; CLEENWERCK, I.; SWINGS, J.; GOTTSCHAL, J. C.;

VANCANNEYT, M. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.52, P.2-639, 2002.

KUNG JR, L. Fermentação da silagem e aditivos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.26, n.3-4, p.61-66, 2018.

KUNG, JR. L. Understanding the biology of silage preservation to Maximize quality and protect the environment. In: **Proceedings**, California Alfalfa & Forage Symposium and Corn/Cereal Silage Conference, Visalia, CA, 1-2, 2010.

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

LANGE, L. Fungal Enzymes and Yeasts for Conversion of Plant Biomass to Bioenergy and High-Value Products. **Microbiol Spectr**, v.10, p. 1029-1048, 2017.

LI, F., DING, Z.; ADESOGAN, A. T.; Ke, W.; JIANG, Y.; Bai, J.; Guo, X. Effects of class IIa bacteriocin-producing *Lactobacillus* species on fermentation quality and aerobic stability of alfalfa silage. **Animals**, v.10, n.9, p.1575, 2020.

LINDGREN, S. E.; AXELSSONA, L. T.; MCFEETER, R. F. Anaerobic-lactate degradation by *Lactobacillus plantarum*. **FEMS Microbiology Letters**, v.66, p.209-213,1990.

LONDON, J. Regulation and function of lactate oxidation in *Streptococcus faecium*. **Journal of Bacteriology**, v.95, p.1380-1387, 1968.

MANCIPE MUÑOZ, E.A.; CASTILLO SIERRA, J.; VARGAS MARTÍNEZ, J.J.; AVELLANEDA, Y. Compositional quality of the ensilage of three cultivars of maíz (*Zea mays*) from the Colombian high tropics. **Agronomía Mesoamericana**, v.33, n.2, 2022.

MARQUES, D.E.O.; BONFÁ, C.S.; MAGALHÃES, M. A.; GUIMARÃES, C.G.; RODRIGUES, R.C.; NOBRE, D.A.C.; BARROSO, E.G. Implicações no uso da técnica de realocação de silagem: uma revisão. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v.11, n.8, 2022.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. Biochemistry of silage (Bioquímica da silagem). **2. ed. Marlow: Chalcombe Publication**, p.340, 1991.

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. Reensilagem e aplicação de inoculante com *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* em silagem de sorgo, **Grass Forage Science**, v.72, p.432-440, 2017.

MIZUBUTI, I.Y.; PINTO, A.P.; PEREIRA, E.S.; RAMOS, B.M.O. Métodos laboratoriais de avaliação de alimentos para animais. **Londrina: Eduel**, 2009.

MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage (O papel dos aditivos de silagem na produção de silagem de alta qualidade). In: SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL (Produção de silagem da semente ao animal). **Proceedings... Nova York: NRAES**, n.67, p.106-116, 1993.

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

MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **Rev. Bras. Zootec**, v.39, p.183–191,2010.

MUCK, R. R.; NADEAU, T. A.; MCALLISTER, T. A.; CONTRERAS-GOVEA, F. E.; SANTOS, M. C.; KUNG, L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 3980–4000, 2018.

NEUMANN, M.; OLIVEIRA, M.R.; ZANETTE, P.M.; UENO, R.K.; MARAFON, F.; SOUZA, M.P. Aplicação de procedimentos técnicos em silagem de milho para melhoria do desempenho animal. In: SIMPÓSIO: PRODUÇÃO E USO DE FORRAGENS CONSERVADAS, Maringá. Anais: Sthampa, p.95-130, 2011.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; DIAS, F.N. Importância da qualidade da parte vegetativa no valor alimentar da silagem de milho. In: SIMPÓSIO SOBRE A PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE 30 FORRAGENS CONSERVADAS. Anais do **Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas**, p.127-145, 2001.

OKOYE, C. O.; WANG, Y.; GAO, L.; WU, Y.; LI, X.; SUN, J.; JIANG, J. The performance of lactic acid bacteria in silage production: A review of modern

biotechnology for silage improvement. *Microbiological Research*, v.266, p.127212, 2023.

ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, J. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed in weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, v.92, p.499-503, 1979.

OUDE ELFERINK, S. J.; 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, n. 1, p. 125-132, 2001

PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S. J. W. H.; SPOELSTRA, S. F. Chapter 2: Microbiology. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (ed.). *Silage Science and Technology*. Madison: **American Society of Agronomy**, p. 31–93, 2003.

PAULA, T.A.; VÉRAS, A.S.C; GOMES, R.N.; FERREIRA, M.A. Produção de silagem: aspectos agrônômicos e valor nutricional em regiões semiáridas - revisão sistemática, *Arquivos do Mudi*, v.25, n.2, p.127-154, 2021.

RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J.P.; GARCIA-CASAL, M.N. Global maize production, utilization and consumption (Produção, utilização e consumo global de milho). *Annals of the New York Academy of Sciences*, v.1312, n.1, p.105-112, 2014.

ROOKE, J.A; HATFIELD, R.D. Biochemistry of ensiling. P. 31-95. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.). *Silage science and technology*. 1.ed. Madison: **American Society of Agronomy**, 2003.

SANTOS, A. P. M.; SANTOS, E. M.; OLIVEIRA, J. S. D.; RIBEIRO, O. L.; PERAZZO, A. F.; PINHO, R. M. A.; PEREIRA, G. A. *African Journal of Range & Forage Science*, v.35, n.1, p.55-62, 2018.

SILVA, A. DO N.; CAMPOS, D.C. DOS S.; DE SOUSA, L.O.; CARDOSO, A.V.S. Contagem de microrganismos probióticos e estudo de pós-acidificação refrigerada em leite fermentado sem lactose com Buriti. *Revista Brasileira de Desenvolvimento*, v.7, n.1, p.3817-3833, 2021.

SILVA, L.D.; PEREIRA, O.G.; SILVA, T.C.; LEANDRO, E.S.; PAULA, R.A.; SANTOS S.A.; RIBEIRO, K.G.; FILHO, S.C.V. Efeitos de *Lactobacillus buchneri* isolado de silagem de milho tropical na fermentação e estabilidade aeróbia de silagens de milho e cana-de-açúcar. **Grass and Forage Science**, pp.660-670, 2018.

SIQUEIRA, M.; CHAGAS, J.; MONNERAT, J.P.; MONTEIRO, C.; MORA-LUNA, R.; DUBEUX, J.; FERREIRA, M. Nutritive Value, In Vitro Fermentation, and Methane Production of Cactus Cladodes, Sugarcane Bagasse, and Urea. **Animals**, v.11, n.5, p.1266-1274, 2021.

TABACCO, E. et al. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1409–1419, 2011.

Tamime, A.Y. Fermented milks: a historical food with modern applications—a review. **European Journal of Clinical Nutrition** v.56, p.S2–S15 ,2002.

TANGNI, E.K.; PUSSEMIER, L.; HOVE, V.F. Mycotoxin Contaminating Maize and Grass Silages for Dairy Cattle Feeding: Current State and Challenges. **Journal of Animal Science Advances**, v.3, n.10, p.492-511, 2013.

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.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. – 8 ed. – Porto Alegre: Editora Atheneu, 2005.

VAN SOEST P.J.; ROBERTSON J.; LEWIS B.A. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10 p.3583-3597, 1991.

VELHO, J. P; MÜHLBACH, P. R. F; GENRO, T. C. M; SANCHEZ, L. M. B.; NORNBORG, J. L.; ORQIS, M. G.; FALKENBERG, J. R. Alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após desensilagem. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p. 916-9234, 2006.

WEINBERG, Z.G; MUCK, R.E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v.19, n.1, p 53-68, 1996.

YILDIRIM, METİN. Purification of buchnericin LB produced by *Lactobacillus buchneri* LB. **Turkish Journal of Biology**, v. 25, n. 1, p. 59-65, 2001.

ZANINE, A.M.; SANTOS, E.M., DÓREA, J.R.R.; DANTAS, P.A.S.; SILVA, T.C.; PEREIRA, O.G. Avaliação da silagem de capim-elefante com adição de raspas de mandioca 32. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2611-2616, 2010.

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F; RIBEIRO, J.L; SARTURI, J.O.; MOURÃO G.B. Relações biométricas entre estágio de maturação e produtividade de híbridos de milho para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.331-336, 2009.