

Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de milho inoculadas com bactérias ácido-láticas em diferentes estádios de maturidade

Losses fermentative and aerobic stability of corn silages inoculated with lactic acid bacterial in different maturity stages

RABELO, Carlos Henrique Silveira^{1*}; REZENDE, Adauton Vilela de²; NOGUEIRA, Denismar Alves³; RABELO, Flávio Henrique Silveira⁴; SENEDESE, Simone Silvia²; VIEIRA, Paulo de Figueiredo²; BARBOSA, Larissa de Ávila²; CARVALHO, Arthur²

¹Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Zootecnia, Departamento de Produção Animal, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

²Universidade José do Rosário Vellano, Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Departamento de Forragicultura e Pastagens, Alfenas, Minas Gerais, Brasil.

³Universidade Federal de Alfenas, Instituto de Ciências Exatas, Alfenas, Minas Gerais, Brasil.

⁴Universidade José do Rosário Vellano, Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Departamento de Ciência Animal, Alfenas, Minas Gerais, Brasil.

*Endereço para correspondência: carlos.zoo@hotmail.com

RESUMO

Objetivou-se, nesta pesquisa, avaliar o efeito de inoculantes bacterianos em silagens produzidas com plantas de milho em diferentes estádios de maturidade quanto às perdas fermentativas e estabilidade aeróbia. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x5, e avaliaram-se dois inoculantes (Silobac[®] e Maize All[®]) e uma silagem controle em 5 estádios de maturação fisiológica do milho, com 4 repetições. Verificou-se efeito positivo dos inoculantes quanto às perdas fermentativas, e a adição de Silobac[®] e Maize All[®] promoveram perda de matéria seca (PMS) 1,78 e 1,75 pontos percentuais a menos que a silagem controle (7,95%). As silagens produzidas com 2/3 de linha de leite e camada negra (CN) apresentaram menor PMS, o que se deve principalmente a menor produção de efluente. A silagem que levou maior tempo para apresentar quebra da estabilidade aeróbia foi aquela produzida a partir de plantas de milho no estágio camada negra e inoculada com Maize All[®], ao passo que se notou menor estabilidade para outras silagens inoculadas com esse mesmo produto em virtude do aumento no teor de umidade das silagens. Os inoculantes utilizados neste trabalho são eficientes em diminuir as perdas de MS durante o processo fermentativo, contudo, contribuem com maior aporte de nutrientes nas silagens, o que resulta em menor estabilidade após a abertura dos silos. Silagens produzidas com maior concentração de MS apresentam menores perdas de MS durante a fermentação, assim como são mais estáveis em contato com o oxigênio.

Palavras-chave: *Lactobacillus plantarum*, matéria seca, pH, temperatura.

SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the inoculation of lactic acid bacterial in corn silages produced in different development stages on the fermentative losses and aerobic stability. The experimental design was completely randomized in factorial scheme 3x5 evaluating two commercial inoculants (Silobac[®] and Maize All[®]) and a control treatment (silage untreated) in five maturity stages with four replicates. The application of Silobac[®] and Maize All[®] decreased the dry matter losses during the fermentative process in 1.78 and 1.75 percentage points when compared to control silage (7.95%). The silages produced with 2/3 of milk line and black layer presented lower dry matter losses due mainly to the lower effluent production. The higher aerobic stability was observed in a silage produced with corn plants in the black layer stage and inoculated with Maize All[®], where there was lower aerobic stability than other silages inoculated with the same product due to increase of moisture of the silages. The inoculants used in this work are efficient in decrease the dry matter losses during the fermentative process, however, there is higher concentration of nutrients in this silages resulting in lower stability after the opening of the silos. Silages produced with higher dry matter content present higher dry matter losses, as well as more stability during the aerobic exposure.

Keywords: dry matter, *Lactobacillus plantarum*, pH, temperature.

INTRODUÇÃO

O milho possui um papel de destaque entre as plantas forrageiras por apresentar alto rendimento de massa verde por hectare associado a alto valor nutritivo. Uma das principais formas de utilização dessa gramínea é na forma de silagem, que garante alimento de bom valor nutritivo para os ruminantes na época em que há escassez de forragem nos pastos em grande parte do País (GIMENES et al., 2006).

Contudo, nem sempre os resultados obtidos estão de acordo com as expectativas geradas pelos produtores. Nesse contexto, a adição de inoculantes bacterianos tem sido proposta para melhorar as características fermentativas e nutritivas da silagem, por meio da rápida queda de pH provocada pela produção de ácido lático, decorrente da aplicação de bactérias ácido-láticas (BAL) homofermentativas (KUNG JUNIOR et al., 2003a).

A deterioração da silagem, por sua vez, quando exposta ao ar é inevitável e pode resultar em perda substancial de matéria seca (WOOLFORD, 1990), o que geralmente ocorre pela interação de atividades fúngicas e bacterianas (TAYLOR et al., 2002). E esses eventos ocorrem principalmente em silagens resultantes de fermentação desejável, em virtude da elevada concentração de lactato (FILYA, 2002). Por isso, há grande variabilidade nos resultados sobre a estabilidade aeróbia das silagens e, embora muitos autores tenham avaliado o efeito de inoculantes bacterianos sobre as características de silagens de milho (DANNER et al., 2003; KLEINSCHIMIT et al., 2005; WEINBERG et al., 2007; KOC et al., 2008), há escassos trabalhos que contemplam esse efeito associado ao

teor de matéria seca da planta (HU et al., 2009).

Embora a inoculação de silagens com BAL, estritamente homofermentativas, resultem em elevadas concentrações de ácido lático nas massas, cujo produto não é eficiente em controlar o desenvolvimento de leveduras e fungos filamentosos, talvez possa ocorrer uma interação entre inoculante e estágio de maturidade, de forma a resultar no controle desses micro-organismos. Como relatado na literatura, o *Lactobacillus plantarum*, em determinadas condições, pode produzir ácido acético, cujo efeito inibe o desenvolvimento dos micro-organismos, o que implica em maior estabilidade das massas após abertura dos silos (HOLZER et al., 2003).

Assim, objetivou-se, nesta pesquisa, avaliar o efeito de inoculantes bacterianos em silagens produzidas com plantas de milho em diferentes estádios de maturidade quanto às perdas fermentativas e estabilidade aeróbia.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia, na Universidade José do Rosário Vellano/UNIFENAS, campus de Alfenas – MG, em 2010. O milho estudado foi o híbrido comercial BM3061, semeado a uma profundidade média de 5cm no plantio. Foram distribuídas 10 sementes por metro linear, com espaçamento entre linhas de 80cm. Na adubação, utilizou-se o formulado NPK 10-20-10, na quantidade de 400kg por hectare. Decorridos 20 dias do plantio, quando as plantas apresentavam 3 ou 4 pares de folhas, realizou-se o desbaste, de modo a deixar 5 plantas por metro linear (20 plantas por linha). Dessa forma, obteve-

se um estande médio de 62.500 plantas por hectare.

O corte e ensilagem do material obedeceram aos estádios de maturidade estabelecidos (sem linha de leite (SLL), 1/3 de linha de leite (LL), 1/2LL, 2/3LL e camada negra - CN). Para isso, foram retiradas, semanalmente, várias espigas em diversos locais da área para acompanhar a redução da linha de leite do grão. Quando estabelecido o ponto ideal de colheita, todas as plantas da subparcela correspondente ao estádio de maturidade para ensilagem foram colhidas manualmente a 10cm da superfície do solo e seccionadas em picadeira estacionária, com regulagem das facas para corte de partículas próximas a 2,0cm.

O material picado foi separado, e os inoculantes foram aplicados por meio de borrifador manual, com água destilada. Os inoculantes foram dosados de acordo com as recomendações de cada fabricante e misturados manualmente ao material ensilado. Amostras permaneceram sem aplicação dos inoculantes (silagem controle); silagem inoculada com Silobac[®], que continha $2,5 \times 10^{10}$ unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g) de *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*; silagem

inoculada com Maize All[®], que continha $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g de *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus plantarum* e $1,0 \times 10^9$ UFC/g de *Pediococcus acidilactici*, enzimas amilolíticas (1,5%), celulolíticas (1,5%) e proteolíticas (2,0%). Após esse processo, foram retiradas amostras das plantas de milho (material original), inoculadas ou não, que foram encaminhadas ao laboratório para determinação do teor de matéria seca (MS).

Para avaliar as perdas fermentativas, utilizaram-se silos experimentais de PVC com capacidade para 4L. Cada tubo possuía uma tampa adaptada com válvula tipo *Bunsen* para o escape de gases e 0,5kg de areia no fundo, separados da forragem por uma tela fina de plástico com malha, adequada para evitar o contato entre areia e silagem. Assim, obteve-se por diferença de peso a produção de efluentes.

Para o ensaio de estabilidade aeróbia, utilizaram-se tambores com capacidade para 200L. Posteriormente, procedeu-se a compactação, com objetivo de obter massa específica (ME) de 500 a 600 kg/m³ (Tabela 1). O mesmo processo foi repetido para a produção das silagens nos estádios SLL, 1/3 LL, 1/2 LL, 2/3 LL e CN.

Tabela 1. Idade ao corte (dias), participação de espigas e grãos (%) na massa ensilada, e massa específica (ME - kg/m³) das silagens em função do estádio de maturidade

Estádio de maturidade*	Corte (dias)	% espigas	% grãos	ME (kg/m ³)
SLL	114	-	-	570,150
1/3 LL	121	32,10	18,21	606,120
1/2 LL	126	31,02	21,54	577,916
2/3 LL	133	34,29	22,05	594,954
CN	140	33,43	23,53	541,771

*SLL = sem linha de leite; LL = linha de leite; CN = camada negra.

Decorridos 55 dias de fermentação, os silos foram abertos para determinação da perda total de MS, perda por gases e perdas por efluente das silagens durante o período de fermentação (JOBIM et al., 2007). Após o descarte da camada superficial, parte da massa ensilada foi transferida para bandejas de plástico para homogeneização. Após esse procedimento, amostras de 4,0kg de silagem foram revolvidas para haver maior penetração de ar na massa e, assim, confeccionarem-se os amontoados (mantidos em galpão coberto e cimentado) para estudo da estabilidade em aerobiose.

A temperatura ambiente e das silagens foram aferidas três vezes ao dia, com intervalos regulares entre observações de 8 horas, durante 7 dias, por meio de termômetros inseridos a 10cm no centro das massas. No mesmo amontoado foram retiradas, aproximadamente, 15g de silagem para determinação dos valores de pH (mesmos tempos de avaliação da temperatura). Optou-se por conduzir o trabalho em temperatura ambiente, pois a condução do ensaio de estabilidade em ambiente de temperatura controlada pode ser de baixa acurácia para estimar, de fato, a velocidade de deterioração da silagem em situação de campo (JOBIM et al., 2007). A temperatura média durante o período em que as silagens ficaram em aerobiose foi 22,41°C, com temperaturas médias de 19,93; 25,63 e 21,21°C nos horários 6:00, 14:00 e 22:00 horas (tempos para coleta de dados), respectivamente.

Os parâmetros para avaliação da instabilidade aeróbia constituíram-se no aumento em 2°C da temperatura da silagem em relação ao ambiente após a abertura dos silos (MORAN et al., 1996), temperatura máxima e número de horas para atingir a temperatura máxima. Outro parâmetro utilizado para avaliação da estabilidade aeróbia das

silagens foi o pH, pois este representa um bom indicador da qualidade de silagens. O teor de MS e valores de pH foram determinados segundo a metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002).

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3x5, de forma a produzir 3 silagens (silagem controle, silagem inoculada com Silobac® e silagem inoculada com Maize All®) em 5 estádios de maturidade (SLL, 1/3LL, 1/2LL, 2/3LL, e CN), com 4 repetições. Para condução do ensaio de estabilidade aeróbia, utilizou-se o esquema de parcela subdividida, em que os fatores atribuídos às parcelas foram as silagens e o estádio de maturidade, e o fator atribuído à subparcela, o tempo (168 horas, com intervalos regulares de 8 h entre colheita de dados). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, exceto para os dados referentes ao tempo necessário para quebra da estabilidade aeróbia.

Alguns tratamentos apresentaram valores iguais em todas as repetições, logo, foram descartados devido a essa homoscedasticidade. A análise dos dados foi realizada a partir do “proc glm” com ajuste “lsmeans” do *software* SAS (SAS INSTITUTE, 1999), em virtude do desbalanceamento criado. Utilizou-se o teste “t” para comparar as médias ajustadas a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de MS das silagens foi alterado somente em função do estádio de maturidade das plantas utilizadas na ensilagem ($P < 0,01$). As silagens produzidas com milho no estádio 1/2LL

e 2/3LL, por sua vez, estiveram dentro ou próximo da faixa ideal preconizada na literatura (300 a 350g/kg de massa verde - MV) para que ocorra boa fermentação do material ensilado, o que garante condições para obtenção de silagens de boa qualidade (Tabela 2). Contudo, verificou-se alta concentração de MS na silagem produzida no estádio

CN (378,3g/kg de MV), o que pode proporcionar condições favoráveis ao aparecimento de fungos, leveduras e micro-organismos aeróbicos, em virtude da dificuldade de compactação, que impede a expulsão de ar e promove perdas no valor nutritivo das silagens (VILELA et al., 2008).

Tabela 2. Concentração de MS, valores de pH e perdas fermentativas das silagens em função da inoculação bacteriana e estádio de maturação fisiológica do milho

Item	MS (g/kg de MV) ¹	pH ¹	PMS (%) ¹	PG (%) ¹	Efluente (kg/t MV) ¹
Inoculante					
Controle	302,3 ^a	3,97 ^a	7,95 ^a	0,035 ^a	13,369 ^a
Silobac	301,1 ^a	3,94 ^a	6,17 ^b	0,037 ^a	13,503 ^a
Maize All	305,1 ^a	3,93 ^a	6,20 ^b	0,026 ^a	12,214 ^a
Estádio de maturidade*					
SLL	240,1 ^c	3,81 ^b	8,96 ^a	0,023 ^b	26,138 ^a
1/3 LL	275,5 ^d	3,92 ^a	8,17 ^a	0,055 ^a	22,348 ^a
1/2 LL	294,9 ^c	3,98 ^a	7,56 ^a	0,034 ^b	11,647 ^b
2/3 LL	325,4 ^b	3,97 ^a	4,86 ^b	0,028 ^b	3,368 ^c
CN	378,3 ^a	4,05 ^a	4,31 ^b	0,024 ^b	1,642 ^c
CV (%)	4,78	3,30	35,83	60,52	67,99

¹Médias seguidas de mesma letra dentro de colunas em cada fator não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*SLL = sem linha de leite; LL = linha de leite; CN = camada negra.

O acréscimo na concentração de MS, nas silagens produzidas com plantas em estádios mais avançados, era previsto, pois no momento do corte, as plantas apresentavam baixa umidade, o que está de acordo com o estádio fenológico do milho.

Com relação aos valores de pH, estes somente foram alterados pelo estádio de maturidade ($P < 0,01$). A silagem produzida no estádio SLL apresentou menor pH, em comparação às demais silagens, possivelmente, em virtude da maior atividade de água (Tabela 2). Silagens com maior concentração de MS tendem a estabilizar o processo fermentativo em pH mais elevado, pois

há menor produção de ácidos em função do aumento na pressão osmótica (McDONALD et al., 1991).

As perdas de MS (PMS) diminuíram mediante aplicação dos inoculantes Silobac[®] e Maize All[®] em relação à silagem controle. Isso ocorre devido às cepas, utilizadas neste trabalho, produzirem ácido láctico como produto final da fermentação (FILYA et al., 2004), e utilizarem como substrato os carboidratos solúveis. Dessa forma, há rápida redução do pH, o que evita a atuação de micro-organismos indesejáveis durante o processo de fermentação. Além disto, a rota de fermentação das BAL homofermentativas

permite recuperação teórica de 100% de MS, pois essas bactérias fermentam glicose e convertem cada molécula desse açúcar em duas de ácido láctico, o que possibilita ainda recuperação teórica de 99,0% de energia (KUNG JUNIOR et al., 2003a).

Trabalhos disponíveis na literatura apontam para o mesmo efeito. Reich & Kung Junior (2010) observaram maior recuperação de MS em silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* + *P. acidilactici* e *L. buchneri* + *L. plantarum* do que na silagem controle (98,0 e 96,5% vs. 94,1%, respectivamente).

Todavia, a aplicação dos inoculantes não alterou as perdas por gás e efluente ($P > 0,05$), o que está de acordo com a rota fermentativa percorrida pelas BAL utilizadas neste estudo. De acordo com Oude Elferink et al. (2001), não há perda teórica de CO_2 quando as BAL homofermentativas atuam na silagem. Notou-se ainda pequena variação de perdas por efluentes (12,2 a 13,5kg/t de MV) em virtude da inoculação bacteriana, pois esta é uma variável mais correlacionada à concentração de MS.

As silagens produzidas com plantas nos estádios 2/3LL e CN apresentaram menores PMS ($P < 0,01$), o que está associado à menor produção de efluente ($P < 0,01$) verificado nessas silagens (Tabela 2). Silagens produzidas com maior teor de umidade são mais susceptíveis à compactação, o que provoca o rompimento da membrana das células e vazamento do conteúdo celular, de modo a resultar em perda substancial de nutrientes e, conseqüentemente, queda no valor nutritivo. Reis & Rosa (2001) verificaram que silagens com menos de 300g de MS por kg de MV podem apresentar elevadas quantidades de efluente.

Outro fator importante refere-se à inibição no desenvolvimento dos

clostrídeos nos estádios com maior concentração de MS, em virtude da menor atividade de água. Estes são considerados os principais micro-organismos anaeróbicos que prejudicam a qualidade da silagem e promovem grandes PMS no silo. McDonald et al. (1991) descrevem que os clostrídeos são sensíveis à disponibilidade de água e, geralmente, inativos em silagens com mais de 280g de MS/kg de MV.

As silagens produzidas nos estádios de maturidade SLL, 1/2LL e 2/3LL apresentaram menor temperatura média em aerobiose ($P < 0,01$) quando não houve inoculação (Tabela 3). Isso ocorreu devido aos micro-organismos utilizados serem responsáveis por maior produção de ácido láctico durante o processo fermentativo, inclusive o *L. plantarum*, classificado como bactéria heterofermentativa facultativa (HOLZER et al., 2003).

Silagens resultantes de fermentação homolática apresentam grande quantidade de substratos ao desenvolvimento principalmente de leveduras (MUCK, 2010) e, em um segundo momento, fungos filamentosos, os quais consomem esse produto, além de carboidratos solúveis residuais, o que resulta no aquecimento das massas devido ao processo de respiração desses micro-organismos.

Notou-se, de maneira geral, menor temperatura, quando as silagens foram produzidas com plantas no estádio 2/3LL (22,92°C), o que possivelmente está associado à menor atividade de água, o que dificulta o crescimento e desenvolvimento de micro-organismos deterioradores aeróbios. As silagens apresentaram picos de temperatura por volta de 48 horas de exposição aeróbia e, posteriormente, novo pico por volta de 120 horas de avaliação (Figuras 1 e 2). Conforme relatado por Woolford (1990), o aumento inicial da

temperatura é causado pelo crescimento de leveduras e fungos filamentosos, contudo, após algum tempo, segundo Muck & Pitt (1992), os bacilos, que não

são importantes até o pH da silagem estar acima de 5,0, causam o segundo aumento de temperatura do material.

Tabela 3. Variáveis de temperatura das silagens durante o período de exposição aeróbia

Silagem	Estádio de maturidade*					Média
	SLL	1/3 LL	1/2 LL	2/3 LL	CN	
Temperatura média (°C) ¹						
Controle	22,96 ^{Cc}	24,00 ^{Aa}	23,54 ^{Bc}	22,37 ^{Dc}	24,13 ^{Aa}	23,40
Maize All	23,93 ^{Ba}	23,77 ^{Ba}	24,54 ^{Aa}	22,84 ^{Cb}	22,12 ^{Db}	23,44
Silobac	23,59 ^{Bb}	23,80 ^{Aa}	24,01 ^{Ab}	23,55 ^{Ba}	23,81 ^{Aa}	23,75
Média	23,49	23,85	24,03	22,92	23,35	
CV (%)	-	-	-	-	-	4,57
Temperatura máxima (°C) ¹						
Controle	27,75 ^{Bb}	30,25 ^{Aa}	26,75 ^{Bb}	26,00 ^{Ba}	27,50 ^{Ba}	27,25
Maize All	29,00 ^{Aa}	27,00 ^{Bb}	29,75 ^{Aa}	27,00 ^{Ba}	25,25 ^{Bb}	27,60
Silobac	29,50 ^{Aa}	27,75 ^{Ab}	27,50 ^{Ab}	27,00 ^{Aa}	27,50 ^{Aa}	27,85
Média	28,08	28,33	28,00	26,66	26,75	
CV (%)	-	-	-	-	-	5,34
Horas necessárias temperatura máxima ¹						
Controle	138 ^{Aa}	42 ^{Bb}	120 ^{Aa}	138 ^{Aa}	62 ^{Ba}	100,0
Maize All	46 ^{Bb}	124 ^{Aa}	90 ^{Ba}	150 ^{Aa}	122 ^{Aa}	106,4
Silobac	60 ^{Bb}	52 ^{Bb}	120 ^{Aa}	122 ^{Aa}	88 ^{Ba}	88,4
Média	81,3	72,6	110,0	136,6	90,6	
CV (%)	-	-	-	-	-	34,7

¹Médias seguidas de mesma letra maiúscula (dentro de linhas) e minúscula (dentro de colunas) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*SLL = sem linha de leite; LL = linha de leite; CN = camada negra.

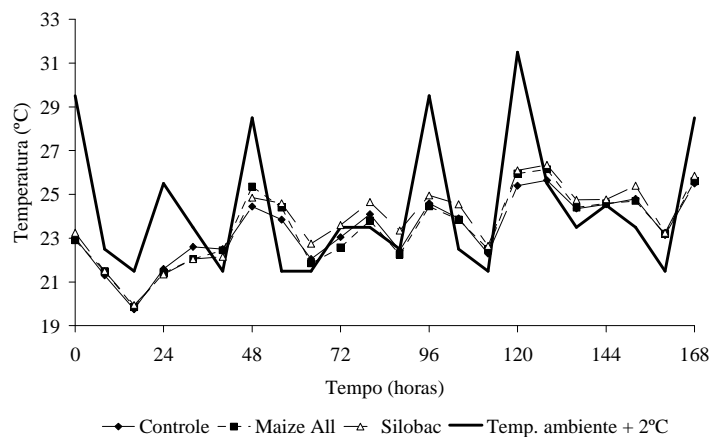


Figura 1. Comportamento temporal da temperatura das silagens inoculadas com bactérias ácido-láticas durante o período de exposição aeróbia

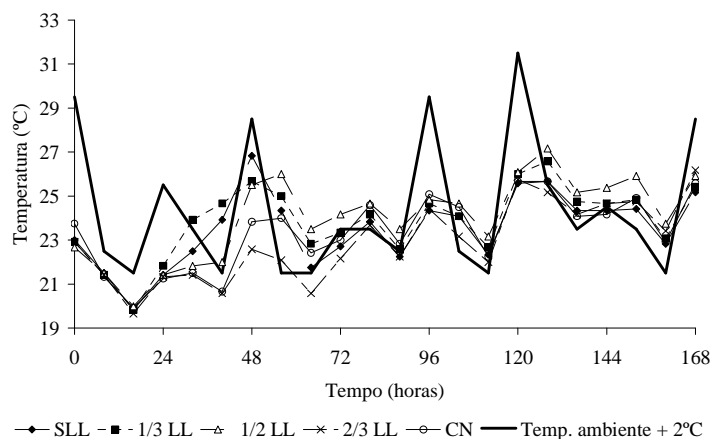


Figura 2. Comportamento temporal da temperatura das silagens produzidas em diferentes estádios de maturação durante o período de exposição aeróbia

A média da temperatura máxima alterou-se em função da interação entre inoculação e estágio de maturidade ($p = 0,0002$), e, de maneira geral, os inoculantes foram mais eficientes em diminuir a máxima temperatura, quando aplicados na ensilagem das plantas de milho, no estágio 1/3LL (Tabela 3). De acordo com Hill & Leaver (2002), há aumento na temperatura das silagens, em virtude do balanço entre a taxa de calor produzida pela atividade microbiana e as perdas de calor, o que está diretamente relacionado à oxidação da MS, que provoca perdas na forma de dióxido de carbono (CO_2).

Ao avaliar o desdobramento da interação entre tratamento e estágio de maturidade ($p = 0,0003$), verificou-se que para dentro das silagens produzidas com plantas no estágio SLL, a silagem controle levou maior tempo para atingir a máxima temperatura (138 horas). O melhor resultado dentro do estágio 1/3LL foi obtido com a inoculação do aditivo Maize All[®] (124 horas), mas, para os demais estádios de maturidade, não houve efeito dos aditivos sobre esta variável (Tabela 3). Esses resultados são superiores às 34 e 49 horas registradas por Gimenes et al. (2006), para atingir o

pico de temperatura em silagem de milho controle e inoculada bacterianamente, respectivamente.

Quanto aos dados de estabilidade aeróbia, o desbalanceamento não possibilitou a estimativa de algumas médias e optou-se por aplicar o teste estatístico somente às silagens inoculadas com Maize All[®] nos estádios SLL, 1/2LL, 2/3LL e CN (Figura 3). Dessa maneira, verificou-se que a silagem no estágio CN apresentou maior estabilidade aeróbia (148 horas) em relação às demais silagens inoculadas com Maize All[®] ($P < 0,05$), fato que pode estar associado à inibição no desenvolvimento de micro-organismos deterioradores em virtude do maior teor de MS verificado nessa silagem, que dificulta o seu desenvolvimento. Weinberg et al. (2011) salientam que as leveduras são os micro-organismos mais relacionados à deterioração das silagens, quando expostas ao oxigênio, o que deprecia consideravelmente o valor nutritivo do alimento e contribui para o decréscimo da sua digestibilidade. Nota-se que há maior estabilidade das silagens em aerobiose em decorrência do maior teor de MS das plantas de milho (Figura 3). Verifica-se também que, nos estádios SLL e 1/2LL, as

silagens apresentaram baixa estabilidade (34 e 38 horas, respectivamente), devido à grande umidade apresentada pelas silagens associada à baixa produção de ácido acético pelas BAL inoculadas. Como descrito na literatura, o ácido láctico não apresenta características antifúngicas (FILYA, 2003), o que faz

com que não interfira na atividade indesejável de leveduras e fungos filamentosos. Dessa forma, o manejo adequado na retirada da silagem e alimentação no cocho minimiza os efeitos de micro-organismos sobre a silagem e aumenta sua estabilidade (KUNG JUNIOR et al., 2003a).

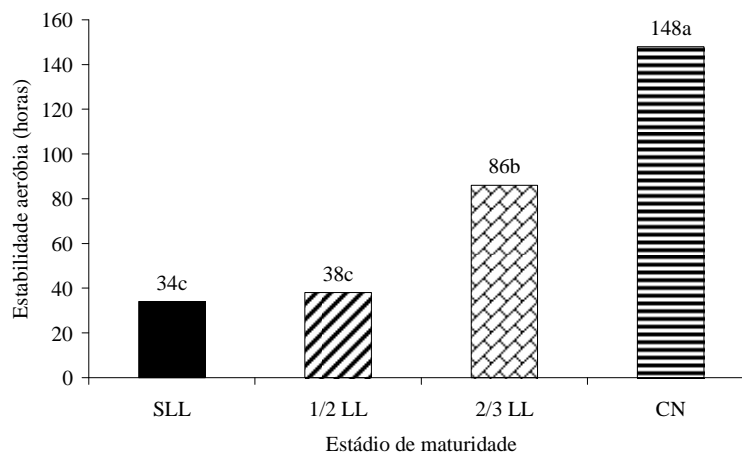


Figura 3. Estabilidade aeróbia de silagens de milho produzidas em diferentes estádios de maturação fisiológica e inoculadas com Maize All[®]

Os tratamentos não considerados na análise apresentaram média igual a 80; 32; 56; 104, 52; 46; 56;56; 62 e 62 horas de estabilidade aeróbia para silagens controle e inoculadas com Silobac[®] nos estádios SLL, 1/3LL, 1/2LL, 2/3LL e CN, respectivamente, e 56 horas para a silagem inoculada com Maize All[®] no estádio 1/3LL.

Ao se proceder o desdobramento da interação entre os fatores de estudo, notaram-se menores valores de pH médio em aerobiose ($P < 0,01$) quando da não aplicação dos inoculantes (silagem controle) nas silagens produzidas com plantas nos estádios SLL, 1/2LL e 2/3LL. Entretanto, com a inoculação do produto Maize All[®], o menor valor verificado foi na silagem produzida no estádio CN (4,35), sem haver efeito dos estádios de

maturidade quando utilizado o inoculante comercial Silobac[®] (Tabela 4).

No entanto, ao estudar o efeito dos inoculantes dentro dos estádios de maturidade, os resultados foram inconsistentes, pois no estádio SLL a inoculação dos produtos comerciais Maize All[®] e Silobac[®] resultaram em valores de pH mais altos do que encontrados na silagem controle. Já no estádio 1/3LL, esse quadro se inverteu: notou-se maior pH na silagem controle, em relação às inoculadas e, nos estádios 2/3LL e CN, a inoculação com Silobac[®] promoveu maior pH (Tabela 4).

Houve grande variação nos valores de pH durante o período de exposição aeróbia, de modo que foi possível verificar valores próximos a 3,5 até superiores a 8,0; o que pode ser um

indicativo prático de que a silagem está em deterioração, devido à degradação dos ácidos orgânicos, principalmente, ácido láctico pela atuação indesejável de leveduras e fungos filamentosos que reduzem a qualidade da silagem em contato com o ar (KUNG JUNIOR et

al., 2003b). Gimenes et al. (2006) relataram valor médio de pH de 6,64 em silagem de milho, sem utilização de inoculantes, após 72 horas de exposição aeróbia, com acréscimo em 3,22 unidades comparativamente ao momento da abertura do silo.

Tabela 4. Variáveis de pH das silagens durante o período de exposição aeróbia

Silagem	Estádio de maturidade*					Média
	SLL	1/3 LL	1/2 LL	2/3 LL	CN	
pH médio ¹						
Controle	4,57 ^{Bb}	6,20 ^{Aa}	5,18 ^{Bb}	4,71 ^{Bb}	6,16 ^{Aa}	5,36
Maize All	5,70 ^{Ba}	5,07 ^{Cb}	6,40 ^{Aa}	5,05 ^{Cb}	4,35 ^{Db}	5,32
Silobac	5,52 ^{Aa}	5,40 ^{Ab}	5,39 ^{Ab}	5,72 ^{Aa}	5,90 ^{Aa}	5,59
Média	5,27	5,56	5,66	5,16	5,47	
CV (%)	-	-	-	-	-	14,38
pH máximo ¹						
Controle	7,22 ^{Ba}	8,44 ^{Aa}	7,45 ^{Ba}	7,68 ^{Bb}	8,72 ^{Aa}	7,90
Maize All	8,01 ^{Aa}	7,42 ^{Ab}	8,40 ^{Aa}	7,38 ^{Ab}	6,19 ^{Bb}	7,48
Silobac	7,91 ^{Aa}	7,60 ^{Ab}	8,23 ^{Aa}	8,55 ^{Aa}	8,57 ^{Aa}	8,17
Média	7,71	7,82	8,02	7,87	7,82	
CV (%)	-	-	-	-	-	7,97
horas para atingir máximo pH ¹						
Controle	160 ^{Aa}	108 ^{Ba}	160 ^{Aa}	166 ^{Aa}	128 ^{Ba}	144,4
Maize All	128 ^{Aa}	136 ^{Aa}	112 ^{Ab}	132 ^{Ab}	146 ^{Aa}	130,8
Silobac	136 ^{Aa}	136 ^{Aa}	124 ^{Ab}	120 ^{Ab}	118 ^{Aa}	126,8
Média	141,3	126,6	132,0	139,3	130,6	
CV (%)	-	-	-	-	-	16,1

¹Médias seguidas de mesma letra maiúscula (dentro de linhas) e minúscula (dentro de colunas) não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*SLL = sem linha de leite; LL = linha de leite; CN = camada negra.

Verificou-se que a aplicação do inoculante Maize All[®] apresentou caráter positivo, pois reduziu os máximos valores de pH ($P < 0,01$), contudo, houve efeito negativo ($p = 0,0054$) sobre o tempo necessário para que fossem atingidos os máximos valores de pH, verificados nos estádios 1/2LL e 2/3LL (Tabela 4), resultado que se deve a utilização de ácido láctico pelos micro-organismos como substrato

para seu desenvolvimento, conforme elucidado por Woolford (1990).

Os inoculantes utilizados neste trabalho (Maize All[®] e Silobac[®]) são eficientes em diminuir as perdas de MS durante o processo fermentativo e, ao mesmo tempo, contribuem com maior aporte de nutrientes nas silagens, o que resulta em menor estabilidade após a abertura dos silos. Silagens produzidas com maior concentração de MS apresentam menores perdas de MS durante a

fermentação, assim como são mais estáveis em contato com o oxigênio.

REFERÊNCIAS

DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; BRAUN, R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.1, p.562-567, 2003.

FILYA, I. The effects of lactic acid bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability, and *in situ* rumen degradability characteristics of maize and sorghum silages. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v.26, p.815-823, 2002.

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

FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. The effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, v.97, p.818-825, 2004.

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

HILL, J.; LEAVER, J.D. Changes in chemical composition and nutritive value of urea treated whole crop wheat during exposure to air. **Animal Feed Science and Technology**, v.102, p.181-195, 2002.

HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; DANNER, H.; BRAUN, R. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. **Trends in Biotechnology**, v.21, n.6, p.282-287, 2003.

HU, W.; SCHMIDT, R.J.; McDONELL, E.E.; KLINGERMAN, C.M.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3907-3914, 2009.

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

KLEINSCHMIT, D.H.; SCHMIDT, R.J.; KUNG JR., L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2130-2139, 2005.

KOC, F.; COSKUNTUNA, L.; OZDUVEN, M.L. The effect of bacteria+enzyme mixture silage inoculant of the fermentation characteristics, cell wall contents and aerobic stabilities of maize silage. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.7, n.2, p.222-226, 2008.

KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage Science and Technology**. Wisconsin: ASA/ CSSA/ SSSA, 2003a. p.305-360.

KUNG JUNIOR, L.; TAYLOR, C.C.; LYNCH, M.P.; NEYLON, J.M. The effect of treating alfafa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.336-343, 2003b.

McDONALD, P.; HENDERSON, N.; HERON, S. **The Biochemistry of Silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340p.

MORAN, J.P.; WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; OWEN, T.R. A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 11., 1996, Aberystwyth. **Proceedings...** Aberystwyth: University of Wales Aberystwyth, 1996. p.162-163.

MUCK, R.E.; PITT, R.E. Aerobic losses at the silo face. **American Society of Agriculture and Engineer**, n.92, p.1003.1992.

MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.183-191, 2010. Supl.

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

REICH, J.; KUNG JUNIOR, L. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.159, n.3, p.105-109, 2010.

REIS, R.A.; ROSA, B. Suplementação volumosa: conservação do excedente das pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 18., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001. p.193-232.

SILVA, D.J.; QUEIRÓZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.Ed.. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002.

–SAS INSTITUTE. **SAS/STAT. User's Guide**. Version 8. Cary: 1999.

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

VILELA, H.H.; REZENDE, A.V.; VIEIRA, P.F.; ANDRADE, G.A.; EVANGELISTA, A.R.; ALMEIDA, G.B.S. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de maturação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.7, p.1192-1199, 2008.

WEINBERG, Z.G.; SHATZ, O.; CHEN, Y.; YOSEF, E.; NIKBAHAT, M.; BEN-GHEDALIA, D.; MIRON, J. Effect of lactic acid bacteria inoculants on *in vitro* digestibility of wheat and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.4754-4762, 2007.

WEINBERG, Z.G.; KHANAL, P.;
YILDIZ, C.; CHEN, Y.; ARIELI, A.
Ensiling fermentation products and
aerobic stability of corn and sorghum
silages. **Japanese Society of Grassland
Science**, v.57, p.1-5, 2011.

WOOLFORD, M.K. The detrimental
effects of air on silage. **Journal of
Applied Bacteriology**, v.68, p.101-116,
1990.

Data de recebimento: 19/10/2011

Data de aprovação: 23/05/2012