



ISABELLA LASMAR DE OLIVEIRA

**UMA NOVA ABORDAGEM PARA IDENTIFICAR E
CONTROLAR A DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS
DE MILHO ESTOCADAS EM SILOS TRINCHEIRA**

**LAVRAS – MG
2018**

ISABELLA LASMAR DE OLIVEIRA

**UMA NOVA ABORDAGEM PARA IDENTIFICAR E CONTROLAR A
DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO ESTOCADAS EM SILOS
TRINCHEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes
Orientador

**LAVRAS – MG
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Oliveira, Isabella Lasmar de.

Uma nova abordagem para identificar e controlar a deterioração
aeróbia de silagens de milho estocadas em silos trincheira / Isabella
Lasmar de Oliveira. - 2018.

58 p. : il.

Orientador(a): Thiago Fernandes Bernardes.

.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Silagem de milho. 2. Desabastecimento do silo. 3.
Deterioração aeróbia. I. Bernardes, Thiago Fernandes. . II. Título.

ISABELLA LASMAR DE OLIVEIRA

**UMA NOVA ABORDAGEM PARA IDENTIFICAR E CONTROLAR A
DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO ESTOCADAS EM SILOS
TRINCHEIRA**

**A NEW APPROACH TO IDENTIFY AND CONTROL AEROBIC DETERIORATION
OF CORN SILAGES STORED IN BUNKER SILOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 17 de dezembro de 2018.

Dra. Carla Luiza da Silva Ávila UFLA

Dr. Márcio André Stefanelli Lara UFLA

Dr. João Luíz Pratti Daniel UEM

Dr. Aداuton Vilela de Rezende UNIFENAS

Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes

Orientador

LAVRAS – MG

2018

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por estar sempre presente ao meu lado, dando-me saúde e força para alcançar meus objetivos.

Aos meus pais, pelos ensinamentos, pela formação moral, por todo amor, incentivo, carinho e por estar ao meu lado em todas as dificuldades.

À minha irmã Isadora, à minha Avó Vilma, ao meu namorado Carlos Eduardo e aos demais familiares pelo carinho e incentivo.

Ao prof. Thiago Fernandes Bernardes, pela orientação, paciência, exemplo de profissionalismo e estímulo à pesquisa científica.

Aos colegas do grupo de Conservação de Forragens e do NEFOR não só pela ajuda nas coletas, mas por todo o aprendizado, companheirismo e amizade.

À todos que me ajudaram com as indicações das fazendas para a realização das coletas.

Aos produtores rurais pela receptividade em suas propriedades e pela disponibilidade dos dados.

Ao Ernesto Tabacco e ao Giorgio Borreani da Universidade de Torino na Itália, pela parceria no desenvolvimento do projeto.

Ao prof. Daniel Casagrande que foi de fundamental importância na análise dos dados.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade concedida.

Aos demais professores e funcionários do Departamento de Zootecnia, que contribuíram para este projeto.

Aos meus amigos que sempre torceram por minhas conquistas e estiveram presentes em vários momentos felizes de minha vida.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

Com o objetivo de identificar e controlar a deterioração aeróbia de silagens de milho foram conduzidos dois experimentos. No primeiro estudo, o objetivo foi o de avaliar o pH da silagem como método para identificar a deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de campo. Para isso, o índice dpH foi criado, o qual, é a diferença entre o pH da amostra coletada no painel do silo a 200 mm de profundidade e o pH coletado a 200 mm de profundidade no centro do silo (pH referência). O dpH foi positivamente correlacionado com a contagem microbiana (leveduras e fungos filamentosos) e com a temperatura da silagem, e negativamente correlacionado com a concentração de ácido lático. Quando o dpH das silagens foi $\geq 0,25$, 72,4% das silagens também apresentaram contagem de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$, 69,0% das silagens tinham contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$ e 86,2% das silagens apresentaram $dT_{\text{ref}40} \geq 5^\circ\text{C}$. Os dados desta pesquisa mostraram que o dpH pode ser utilizado como um índice associado a deterioração aeróbia, pois ele está relacionado com a atividade das leveduras e fungos filamentosos e com o aumento da temperatura da silagem durante o processo de deterioração. O dpH $\geq 0,25$ demonstra que a deterioração aeróbia pode estar começando e, portanto, boas práticas de manejo durante o desabastecimento do silo devem ser adotadas. No segundo estudo, o objetivo foi o de encontrar uma taxa de retirada durante o desabastecimento do silo que considere a densidade da silagem para evitar a deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em silos trincheira. A taxa de retirada proposta neste estudo foi baseada na quantidade de silagem diária que é consumida por metro quadrado de área de painel ($\text{kg/m}^2/\text{dia}$). Nos silos onde a taxa de retirada foi maior que $280 \text{ kg/m}^2/\text{dia}$ a silagem localizada no topo foi similar a silagem do centro em relação a contagem de leveduras e fungos filamentosos, o que foi capaz de manter uma boa qualidade microbiológica da silagem em todo o painel do silo. Além disso, quando a taxa de retirada foi maior que $280 \text{ kg/m}^2/\text{dia}$ não foi observado sinais de deterioração aeróbia nas silagens, tais como: contagem de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$, contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$, $dT_{\text{ref} 40} \geq 5^\circ\text{C}$ e $\text{dpH} \geq 0,25$. Portanto, a taxa de retirada da silagem maior que $280 \text{ kg/m}^2/\text{dia}$ foi efetiva em controlar a deterioração aeróbia em silagens de milho estocadas em silos trincheira.

Palavras-chave: Silagem de milho. Desabastecimento do silo. Manejo da silagem. Deterioração aeróbia.

ABSTRACT

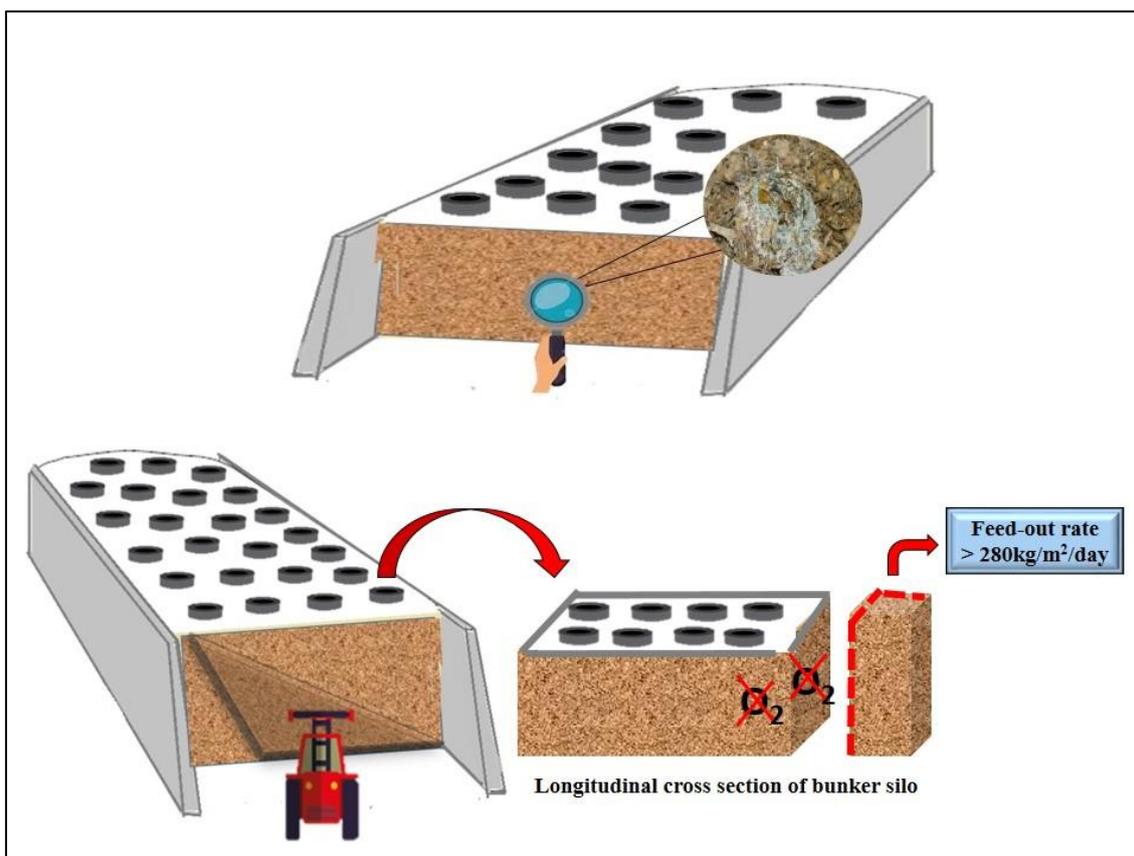
Aiming to identify and control the aerobic deterioration of corn silage two trials were carried out. In the first study, the aim was to evaluate the silage pH as a method to identify the aerobic deterioration of corn silage under field conditions. For that, a dpH index was created, which is the difference between the pH of the sample collected at the top at 200 mm depth and the pH collected at 200 mm depth in the center of the silo (reference pH). The dpH was positively correlated with the microbial counts (yeast and molds) and with the silage temperature, and negatively correlated with the lactic acid concentration. When the dpH of the silages was ≥ 0.25 , 72.4% of the silages also had a yeast count $\geq 5 \log \text{cfu} / \text{g}$, 69.0% of the silages had a molds count $\geq 2 \log \text{cfu} / \text{g}$ and 86.2% of the silages presented $dT_{\text{ref}40} \geq 5^\circ\text{C}$. The data from this research showed that dpH can be used as an index associated with aerobic deterioration, as it is related to the activity of yeasts and molds and with increasing silage temperature during the deterioration process. The $\text{dpH} \geq 0.25$ shows that aerobic deterioration is occurring and thus good management practices during the unloading silage should be adopted. In the second study, the aim was to find an unloading rate that considers silage density to control aerobic deterioration of corn silage stored in bunker silos. The feed-out rate proposed in this study was based on daily silage consumption per silo face area ($\text{kg}/\text{m}^2/\text{day}$). In the silos where the feed-out rate was greater than $280 \text{ kg}/\text{m}^2/\text{day}$ the silage located at the top was similar to the center, in relation to the yeast and mold count, which maintained a good microbial quality of the silage throughout the silo face. Furthermore, when the feed-out rate was greater than $280 \text{ kg}/\text{m}^2/\text{day}$, no signs of aerobic deterioration were observed in the silages, such as yeast count $\geq 5 \log \text{cfu}/\text{g}$, mold count $\geq 2 \log \text{cfu}/\text{g}$, $dT_{\text{ref}40} \geq 5^\circ\text{C}$ and $\text{dpH} \geq 0.25$. Therefore, the silage feed-out rate greater than $280 \text{ kg}/\text{m}^2/\text{day}$ was effective in controlling the aerobic deterioration in corn silages stored in bunker silos.

Keywords: Corn silage. Unloading of the silo. Silage management. Aerobic deterioration.

RESUMO INTERPRETATIVO E RESUMO GRÁFICO

O propósito do estudo foi avaliar novas abordagens para identificar e controlar a deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em silos trincheira. O pH da silagem foi avaliado como um método para identificar a deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de campo. Para isso, foi criado o índice dpH que é a diferença entre o pH da amostra e o pH da silagem no centro do silo. Esse índice mostrou estar relacionado com a atividade das leveduras e fungos filamentosos e com o aumento da temperatura da silagem durante o processo de deterioração. Valores de dpH maior ou igual a 0,25 indica que a deterioração aeróbia pode estar começando e, portanto, as práticas de manejo precisam ser melhoradas.

Para controlar a deterioração aeróbia foi proposta uma taxa de retirada durante o desabastecimento do silo que considera a densidade da silagem. Essa taxa de retirada foi baseada na quantidade de silagem diária que é consumida por metro quadrado de área de painel ($\text{kg}/\text{m}^2/\text{dia}$). No silos em que a taxa de retirada foi maior que $280 \text{ kg}/\text{m}^2/\text{dia}$, as silagens mantiveram uma boa qualidade microbiológica em todo o painel do silo. Removendo mais que 280 kg de silagem/ m^2/dia reduz o risco de deterioração aeróbia em silagens de milho, evitando que silagem deteriorada seja fornecida aos animais.



Uma nova abordagem para identificar e controlar a deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em silos trincheira

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	9
1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1 Desabastecimento do silo e a penetração do oxigênio	11
2.2 Deterioração aeróbia em silagens	12
2.3 Identificação da deterioração aeróbia em condições de campo	14
2.4 Recomendações de taxa de retirada da silagem em silos trincheira	16
REFERÊNCIAS	18
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	22
ARTIGO 1 – O USO DO pH COMO UM MÉTODO PARA IDENTIFICAR A DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO EM CONDIÇÕES DE FAZENDA	22
1 INTRODUÇÃO	24
2 MATERIAL E MÉTODOS	25
3 RESULTADOS	28
4 DISCUSSÃO	31
5 CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
ARTIGO 2 – UMA NOVA ABORDAGEM PARA RECOMENDAR A TAXA DE RETIRADA E CONTROLAR A DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO ESTOCADAS EM SILOS TRINCHEIRA	36
1 INTRODUÇÃO	38
2 MATERIAL E MÉTODOS	39
3 RESULTADOS	43
4 DISCUSSÃO	50
5 CONCLUSÃO	53
6 IMPLICAÇÕES	54
REFERÊNCIAS	55

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A silagem de milho é a principal fonte de forragem utilizada na dieta de vacas leiteiras em todo o mundo (FERRARETTO; SHAVER; LUCK, 2018). No entanto, a silagem de milho é particularmente mais suscetível às perdas pelo processo de deterioração aeróbia (WEINBERG et al., 2011) pelo fato, de silagens bem fermentadas terem maior disponibilidade de substrato para os microrganismos deterioradores (CAI et al., 1999) e por produzirem menor conteúdo de substâncias que inibem tais microrganismos (O'KIELY; MUCK, 1992).

Silos trincheira são amplamente utilizados em fazendas leiteiras devido às suas vantagens relacionadas ao manejo (BERNARDES; RÊGO, 2014). No entanto, este tipo de silo permite que as silagens se tornem mais propensas à deterioração aeróbia (BOLSEN et al., 1993), pois sua configuração possibilita que grandes áreas do material ensilado sejam expostas ao oxigênio durante a fase de desabastecimento, principalmente, nas regiões periféricas que é uma área de intensa troca gasosa devido a menor densidade e maior porosidade da massa (PITT; MUCK, 1993).

Na fase de desabastecimento, a silagem permanece exposta ao ambiente e grandes quantidades de oxigênio podem penetrar pelos poros da massa ensilada. Com a penetração do oxigênio, perde-se a condição de anaerobiose e a silagem torna-se potencialmente instável e propensa a deterioração aeróbia (WEINBERG; ASHBELL, 2003).

A deterioração aeróbia da silagem provoca perdas de matéria seca, redução do valor nutritivo da silagem e afeta o consumo e o desempenho animal (GERLACH et al., 2013; MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Além disso, a deterioração aeróbia pode causar graves problemas aos seres humanos devido a transferência de microrganismos da silagem para o leite, além do risco de contaminação por micotoxinas (DRIEHUIS, 2013; LINDGREN; PAHLOW; OLDENBURG, 2002). No entanto, é importante que técnicos e produtores possam avaliar e quantificar com precisão e rapidez as condições de sua silagem, evitando que silagem deteriorada seja fornecidas aos animais, além de poder melhorar as práticas de manejo para evitar a exposição prolongada da silagem ao oxigênio, e consequentemente, a deterioração aeróbia.

Em condições de fazendas, o processo de deterioração aeróbia é geralmente manifestado pelo aumento da temperatura e pelo aparecimento de fungos nas áreas periféricas do silo (ASHBELL; WEINBERG, 1992). Borreani e Tabacco (2010) propuseram um método de

campo para auxiliar produtores e técnicos na detecção da deterioração aeróbia da silagem. Este método relaciona a temperatura do centro do silo (referência) com aquela medida em outros locais da face do silo, em particular nas áreas periféricas. No entanto, experiências práticas tem mostrado que mais variáveis devem ser medidas para que se possa confirmar a deterioração aeróbia da silagem em condições de fazenda.

Uma forma de evitar os efeitos prejudiciais da exposição da silagem ao oxigênio, e conseqüentemente, a deterioração aeróbia, é através da taxa de retirada da silagem (BORREANI; TABACCO, 2012). No entanto, a recomendação da taxa de retirada deve levar em consideração a densidade da silagem, pois, quanto maior a densidade da silagem, menor a porosidade e mais lento o movimento do oxigênio ao longo da massa ensilada (PITT, 1986; REES; AUDSLEY; NEALE, 1983). Até o momento, não se tem na literatura uma recomendação de taxa de retirada da silagem que foi obtida em experimentos de campo e que considere a densidade da silagem para que se possa evitar a deterioração aeróbia durante a fase de desabastecimento do silo.

Desse modo, os objetivos do trabalho foram:

- Encontrar uma variável que possa ser utilizada juntamente com a temperatura para identificar a deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de campo;
- Identificar uma taxa de retirada durante o desabastecimento do silo que considere a densidade da silagem, para evitar a deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em silos trincheira

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Desabastecimento do silo e a penetração do oxigênio

Durante a fase de desabastecimento do silo, o contato da massa ensilada com o oxigênio é inevitável (HONIG, 1991). Nesta etapa, a silagem da face frontal do silo que não é rapidamente removida e fornecida aos animais permanece exposta ao ambiente e grandes quantidades de oxigênio começam a penetrar pelos poros da massa ensilada causando deterioração aeróbia da silagem (WOOLFORD, 1990).

O oxigênio pode penetrar na silagem por difusão, devido a diferenças nas concentrações entre o ar dentro do silo e a atmosfera externa (PITT, 1986), e também por permeação, como consequência das diferenças na pressão do gás e na densidade entre o ar externo e o gás dentro da massa ensilada (PARSONS, 1991).

A densidade e a porosidade da silagem são fatores físicos que afetam a extensão da penetração do oxigênio na massa ensilada durante o desabastecimento do silo (HONIG, 1991). A menor densidade da silagem como resultado de uma compactação inadequada é refletida em maior porosidade (HOLMES; MUCK, 2007), o que permite a entrada mais rápida de ar para dentro da massa ensilada após a abertura do silo comparado com silagens mais densas (HONIG; PAHLOW; THAYSEN, 1999).

A deterioração aeróbia durante a fase de desabastecimento do silo pode ser controlada através da taxa de retirada da silagem, a qual, deve exceder a profundidade da penetração de oxigênio no silo (BORREANI; TABACCO, 2012; WILKINSON; DAVIES, 2013). Além disso, é necessário destacar a importância de combinar altas taxas de desabastecimento com o manejo adequado de retirada da silagem no painel do silo, a fim de controlar o processo de deterioração aeróbia (BORREANI; TABACCO, 2012; TABACCO; BORREANI, 2002).

Durante o desabastecimento do silo, a densidade pode ser afetada pelo modo como a silagem é retirada (por exemplo: equipamento utilizado no corte), devido às perturbações que podem ocorrer na estrutura da massa remanescente (WEINBERG; ASHBELL, 2003), o que pode levar a maior susceptibilidade à penetração de oxigênio. A remoção da silagem deve ser realizada mantendo o painel do silo liso, de modo que, a área de superfície da forragem exposta ao oxigênio seja minimizada (HOLMES; BOLSEN, 2009).

Parsons (1991) modelou a penetração do oxigênio na silagem utilizando duas densidades diferentes (600 e 800 kg/m³), quando a taxa de retirada foi por volta de 1 m por dia. Na silagem de 800 kg/m³, a penetração de oxigênio foi estável, com concentrações de até

3% encontradas nos primeiros 1,5 m da nova face do silo. Na silagem menos densa, foram encontradas concentrações maiores de oxigênio, o qual penetrou até 2 m a partir da face do silo. O autor também verificou que o perfil de oxigênio não é estável, pois a cada dia, a concentração de oxigênio a 1m da nova face do silo é cerca de 2% menor do que no dia anterior. Isso indica que o oxigênio está sendo consumido por uma população microbiana já ativa, acarretando em elevadas perdas. Esse resultado ilustra claramente o benefício de uma silagem mais densa na redução das perdas aeróbias.

Para simular a deterioração aeróbia da silagem na face de silos trincheira exposta ao ar, Pitt e Muck (1993) apresentaram um modelo que inclui a concentração de oxigênio, aumento da temperatura da silagem, atividade microbiana e perdas de matéria seca. Os resultados do modelo sugeriram que a diminuição da porosidade da silagem devido a maior densidade de compactação foi importante na localização da deterioração mais perto da face do silo e na redução das perdas, e que o aumento da taxa de retirada da silagem é uma prática de manejo eficaz em controlar a deterioração aeróbia.

Para garantir a correta taxa de retirada durante o desabastecimento do silo, o tamanho e as dimensões do silo devem ser planejados de acordo com a necessidade de silagem consumida diariamente pelo rebanho (BERNARDES; ADESOGAN, 2012). Grande parte dos produtores ainda dimensionam seus silos de forma errônea, com a construção de silos superdimensionados em relação ao número de animais a serem alimentados. Este fato pode ser observado em uma pesquisa realizada por Bernardes e Do Rêgo (2014) sobre as práticas de produção e utilização de silagem em fazendas leiteiras no Brasil, em que, apenas 29,2% dos produtores removiam a silagem por completo da face do silo. Recomenda-se que os silos devem ser construídos de modo que eles sejam mais longos do que largos, a fim de obter uma maior taxa de remoção da silagem no desabastecimento (WILKINSON; DAVIES, 2013).

2.2 Deterioração aeróbia em silagens

A penetração do oxigênio na massa ensilada permite que vários microrganismos indesejáveis se tornem ativos e se multipliquem, causando deterioração aeróbia da silagem (WOOLFORD, 1990). As leveduras são consideradas os microrganismos responsáveis pelo início da deterioração aeróbia em silagens (PAHLOW et al., 2003; WOOLFORD, 1990), pois são capazes de se desenvolverem em ambientes com baixa concentração de oxigênio e baixo pH (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Em alguns casos, na silagem de milho

bactérias ácido acéticas também têm sido encontradas como iniciadoras do processo de deterioração aeróbia (SPOELSTRA; COURTIN; VAN BEERS, 1988).

Durante o processo de deterioração aeróbia, as leveduras utilizam o ácido lático e os açúcares residuais, o que provoca o aumento da temperatura e do pH da silagem (PAHLOW et al., 2003). Essas condições permitem que outros microrganismos, como os fungos filamentosos, *Bacillus* spp., *Listeria* spp., *Clostridium* spp. e as enterobactérias também se desenvolvam durante a fase de deterioração aeróbia (BORREANI; TABACCO, 2008; LINDGREN et al., 1985; VISSERS et al., 2007a). Os clostrídios, embora sejam microrganismos anaeróbios estritos, o seu crescimento também pode ocorrer durante o processo de deterioração aeróbia da silagem (PAHLOW et al., 2003). O consumo dos ácidos produzidos durante a fermentação e o consumo de oxigênio pelos microrganismos aeróbios na superfície da silagem, levam à formação de micro nichos, onde os fatores que inibiam a multiplicação dos clostrídios são reduzidos ou ausentes e, nestas condições, é que os clostrídios podem se desenvolver (JONSSON, 1989). Os microrganismos que se desenvolvem no processo de deterioração aeróbia incluem aqueles que são prejudiciais para a qualidade nutricional da silagem, como as leveduras e clostrídios, e aqueles que podem ser perigosos para a saúde animal ou para a segurança do leite ou outros produtos alimentares, tais como *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, outras espécies de *Enterobacteriaceae* e fungos filamentosos (DRIEHUIS et al., 2018).

Os fungos filamentosos são considerados coadjuvantes na deterioração aeróbia da silagem, pois, o seu desenvolvimento acontece em sucessão ao crescimento das leveduras (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Fungos toxigênicos têm sido encontrados em silagem de milho juntamente com elevadas concentrações de micotoxinas (DRIEHUIS et al., 2008; GONZALEZ-PEREYRA et al., 2008). As micotoxinas são metabólitos secundários de certos gêneros fúngicos que podem ter efeitos prejudiciais sobre a saúde animal (distúrbios reprodutivos e metabólicos) e causar perdas na produção, além de comprometer a segurança de produtos alimentares de origem animal, principalmente, o leite e os produtos lácteos (CAVALLARIN et al., 2011; DRIEHUIS; OUDE ELFERINK, 2000; SCHMIDT et al., 2015).

Os gêneros *Clostridium* e *Bacillus* são bactérias formadoras de esporos, o que os tornam indesejáveis nos sistemas de produção de alimentos (LINDGREN; PAHLOW; OLDENBURG, 2002). A passagem dessas bactérias de um ambiente para o outro ocorre geralmente por meio dos esporos, que é uma forma de sobrevivência muito resistente ao oxigênio, ao calor, aos ácidos orgânicos e às enzimas digestivas (PAHLOW et al., 2003). A espécie *Bacillus cereus* é considerada uma das principais bactérias inimigas dos laticínios, pois seus esporos limitam a

vida útil de produtos lácteos pasteurizados estocados a temperatura de geladeira (VISSERS et al., 2007b). Em relação a contaminação com clostrídios, o problema agrava-se quando o leite é destinado a produção de queijos. Os esporos de clostrídios se mantêm vitais durante o processo de produção de queijos, principalmente aqueles que possuem prolongado período de cura. Com isso, o desenvolvimento desses microrganismos no queijo pode provocar sabores estranhos e formação excessiva de gás (VISSERS et al., 2007b).

A *Listeria monocytogene* é outro microrganismo encontrado em silagens deterioradas, a qual, é responsável por um grande número de enfermidades em animais, tais como, meningite, encefalites, septicemia e abortos, oferecendo riscos de contaminação também para seres humanos (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

2.3 Identificação da deterioração aeróbia em condições de campo

Em silos trincheira, a deterioração aeróbia ocorre principalmente nas regiões superficiais e periféricas quando comparado a zona central do silo (BORREANI; TABACCO, 2010). As regiões superficiais e periféricas são mais propensas a deterioração aeróbia por serem áreas de intensa troca gasosa, devido à dificuldade de compactação, o que acarreta em menor densidade comparado a região central (D'AMOURS; SAVOIE, 2005).

Em uma pesquisa realizada por Bernardes (2012) no Brasil sobre as práticas de produção de silagem em fazendas leiteiras, 100% dos produtores entrevistados (n = 272) relataram a ocorrência de deterioração aeróbia na camada do topo de seus silos. Oitenta e dois por cento dos produtores informaram que a deterioração foi evidente nos primeiros 10 cm do topo do silo, 14 % relataram que a deterioração ocorre até nos 20 cm do topo e 4 % relataram que a deterioração ocorre até nos 30 cm do topo.

Em condições de fazendas, os produtores identificam o processo de deterioração aeróbia de forma visível pelo aparecimento de fungos e/ou camadas de silagem com coloração amarronzada. No entanto, o processo de deterioração pode ser invisível mesmo que a silagem apresente alta contagem microbiana. Além disso, é possível que as camadas abaixo das regiões com fungos visíveis também estejam em processo de deterioração (MUCK; MOSER; PITT, 2003). A identificação da deterioração aeróbia em seus estágios iniciais, quando as áreas com fungos ainda não são visíveis é fundamental para que técnicos e produtores possam fazer o descarte de silagem deteriorada antes do fornecimento aos animais e melhorar as práticas de manejo para evitar que o processo de deterioração continue.

Durante a exposição da silagem ao oxigênio, as leveduras que utilizam o lactato se proliferam, consumindo o ácido lático e os açúcares residuais, produzindo dióxido de carbono, água e calor (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Como o processo de oxidação é acompanhado pela evolução do calor, um aumento na temperatura pode ser considerado um indicador conveniente da extensão e intensidade da deterioração aeróbia, tanto em condições experimentais quanto na prática (HONIG; WOOLFORD, 1980; WILLIAMS; LOWE; REES, 1994).

A primeira tentativa de detectar a deterioração aeróbia em nível de fazenda, por meio da medição da temperatura foi feita por Ruppel et al. (1995). Esses autores mesuraram a temperatura da silagem durante a fase de desabastecimento a profundidades de 200 mm em vários locais ao longo do painel do silo e a temperaturas ambiente foi tomada ao mesmo tempo. Eles então utilizaram a temperatura da silagem acima da temperatura ambiente como um índice de aquecimento associado à deterioração aeróbia. O principal problema deste método é que a temperatura ambiente nem sempre é uma referência adequada, devido suas flutuações diárias e sazonais (BORREANI; TABACCO, 2010).

Borreani e Tabacco (2010) avaliaram a relação da temperatura da silagem de milho e o perfil de microrganismos na face de silos trincheira e verificaram que os aumentos de temperatura no painel de silos trincheira em fazendas são claramente associados com a atividade de microrganismos deterioradores. Esses autores então propuseram um método de campo que relaciona a temperatura da área central do silo medida a 400 mm de profundidade (referência; T_{ref40}) com a temperatura medida a 200 mm de profundidade nos outros locais da face do silo, em particular nas áreas periféricas. A diferença entre a temperatura da amostra de silagem e o T_{ref40} foi então utilizada como índice de aquecimento associado à deterioração aeróbia (dT_{ref40}). Segundo os autores, quando o dT_{ref40} for superior à 5 °C existe fortes indícios de início de deterioração aeróbia. Neste estudo, o valor de dT_{ref40} maior que 5 °C estava associado com contagem de leveduras maior que 5 log ufc/g e quando dT_{ref40} foi maior que 10 °C, a contagem de fungos filamentosos foi superior a 4 log ufc/g. De acordo com Woolford (1990), quando a contagem de leveduras é maior que 5 log ufc/g a silagem é particularmente propensa à deterioração aeróbia. Isso sugere que a medição da temperatura da silagem pode ter aplicações práticas em alertar produtores e técnicos para o início da deterioração aeróbia, podendo também ser útil em identificar alterações que são invisíveis no painel do silo.

No entanto, experiências de campo têm mostrado que mais variáveis devem ser medidas para que se possa confirmar a ocorrência de deterioração aeróbia da silagem em condições de fazenda. Pois, quando apenas o método da temperatura proposto por Borreani e Tabacco (2010)

é utilizado, o calor produzido pela respiração da forrageira no momento do abastecimento do silo pode ser confundido com o aquecimento causado pela deterioração aeróbia. Uma vez que, a temperatura da região central do silo pode permanecer alta por um longo período de tempo, devido a grande massa de forragem atuar como isolante, resultando em uma dissipação de calor muito lenta (KUNG et al., 2018).

2.4 Recomendações de taxa de retirada da silagem em silos trincheira

A principal preocupação na fase de desabastecimento do silo é a deterioração aeróbia, devido à reintrodução do oxigênio na massa ensilada. Uma forma de controlar a deterioração aeróbia durante o desabastecimento do silo é através da taxa de retirada da silagem (BORREANI; TABACCO, 2012). Até o momento, as recomendações de taxa de retirada da silagem presentes na literatura foram baseadas no avanço linear do painel (m/dia ou m/semana), que foram propostos através de observações empíricas (BORREANI; TABACCO, 2012) ou baseadas em dados obtidos de modelos matemáticos, como o de Pitt e Muck (1993).

As taxas de retirada da silagem baseadas no avanço linear foram recomendadas de forma empírica em alguns países em função da localização geográfica e da estação do ano (BORREANI; TABACCO, 2012). Vissers et al. (2007a), recomendaram taxa de retirada de 1,00 e 1,50 m/semana (no inverno e verão, respectivamente) na Holanda, Schroeder (2004) recomendou uma taxa de retirada de 1,05 e 2,10 m/semana (no inverno e verão, respectivamente) na Dakota do Norte, Berger e Bolsen (2008) recomendaram taxa de retirada de 1,35 e 2,15 m/semana (no inverno e verão, respectivamente) em Kansas e Tabacco e Borreani (2002) recomendaram a taxa de retirada de 1,05 e 1,60 m/semana (no inverno e verão, respectivamente) na Itália.

Esse tipo de recomendação de taxa de retirada baseada no avanço linear do painel pode ser falho, uma vez que, em condições de fazenda as silagens variam quanto a sua densidade, e portanto, na extensão da penetração do oxigênio dentro do silo, e conseqüentemente, na deterioração aeróbia da silagem (WEINBERG; ASHBELL, 1994). Recentemente, Köhler et al. (2013) analisaram 48 silos trincheiras em fazendas e verificaram que as perdas de matéria seca em silagens de milho foram inversamente relacionada à densidade e a taxa de retirada, o que reforça ainda mais o conceito que a taxa de retirada deve ser avaliada juntamente com a densidade da silagem.

Alguns pesquisadores como Parsons (1991) e Pitt e Muck (1993) construíram silos modelo com a penetração de ar controlada para determinar as perdas que podem ocorrer durante

o desabastecimento do silo. O trabalho de Pitt e Muck (1993) mostrou que maior densidade e maior taxa de retirada da silagem predizem substancialmente menores perdas de matéria seca. Holmes (2009) utilizando os dados do modelo de Pitt e Muck (1993) traçou as perdas de matéria seca em função da taxa de retirada da silagem em diferentes densidades (481, 641, 801 e 961 kg/m³). O autor observou que a recomendação de uma taxa de retirada da silagem de 0,31 m/dia garante que a perda de matéria seca seja inferior a 3% para todas as densidades avaliadas. Segundo o autor, como a taxa de retirada da silagem pode variar durante o desabastecimento do silo, a recomendação de uma taxa de retirada de até no mínimo 0,15 m/dia garante que as perdas de matéria seca não sejam superiores ao valor desejado de 3% quando a densidade da silagem foi de 641, 801 ou 961 kg/m³. No entanto, apesar desses sistemas de modelos fornecem bons dados para condições definidas, eles podem não ser relevantes para estimar perdas em condições de fazenda (ASHBELL; LISKER, 1988).

REFERÊNCIAS

- ASHBELL, G.; LISKER, N. Aerobic deterioration in maize silage stored in a bunker silo under farm conditions in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 45, n. 4, p. 307-315, 1988.
- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G. Top silage losses in horizontal silos. **Canadian Agricultural Engineering**, Ottawa, v. 34, n. 2, p. 171-175, 1992.
- BERGER, L. L.; BOLSEN, K. K. Sealing strategies for bunker silos and drive-over piles. In: **SILAGE FOR DAIRY FARMS: GROWING, HARVESTING, STORING, AND FEEDING**, 181., 2006, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: NRAES, 2006. p. 266-283..
- BERNARDES, T. F. (2012) A survey of silage management practices on dairy farms in Brazil. On line. www.tfbernardes.com/ebook1.html. Acessado em 01 de Agosto de 2018.
- BERNARDES, T. F.; ADESOGAN, A. T. Aerobic deterioration of silages in warm climates. In: **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DE PASTAGEM**, 4., 2012, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2012. p. 249-268.
- BERNARDES, T. F.; RÊGO, A. C. do. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 3, p. 1852-1861, 2014.
- BOLSEN, K. K. et al. Rate and Extent of Top Spoilage Losses in Horizontal Silos. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 10, p. 2940-2962, 1993.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. Effect of silo management factors on aerobic stability and extent of spoilage in farm maize silages. In: **INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE**, 16., 2012, Helsinki. **Proceedings...** Hameenlinna: MTT Agrifood Research Finland; University of Helsinki, 2012. p. 71-72.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. Low permeability to oxygen of a new barrier film prevents butyric acid bacteria spore formation in farm corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 11, p. 4272-4281, 2008.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 6, p. 2620-2629, 2010.
- CAI, Y. et al. Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 3, p. 520-526, 1999.
- CAVALLARIN, L. et al. Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as a result of aerobic exposure. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 13, p. 2419-2425, 2011.
- D'AMOURS, L.; SAVOIE, P. Density profile of corn silage in bunker silos. In: **2005 ASAE Annual Meeting**. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2005. p. 1.

DRIEHUIS, F. Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 16-34, 2013.

DRIEHUIS, F. et al. Silage review: Animal and human health risks from silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 4093-4110, 2018.

DRIEHUIS, F. et al. Occurrence of mycotoxins in maize, grass and wheat silage for dairy cattle in the Netherlands. **Food Additives and Contaminants**, v. 1, n. 1, p. 41-50, 2008.

DRIEHUIS, F.; OUDE-ELFERINK, S. J. W. H. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review. **Veterinary Quarterly**, The Hague, v. 22, n. 4, p. 212-216, 2000.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 3937-3951, 2018.

GERLACH, K. et al. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 168-181, 2013.

GONZÁLEZ-PEREYRA, M. L. et al. Fungi and selected mycotoxins from pre-and postfermented corn silage. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 104, n. 4, p. 1034-1041, 2008.

HOLMES, B. J.; BOLSEN, K. K. What's new in silage management. In: INTERNATIONAL SILAGE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison: University of Wisconsin, 2009. p. 61-76.

HOLMES, B. J.; MUCK, R. E. Packing bunkers and piles to maximize forage preservation. In: **Sixth International Dairy Housing Conference Proceeding, 16-18 June 2007, (Minneapolis, Minnesota) (Electronic Only)**. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2007. p. 10.

HOLMES, B. J. Software applications for sizing silos to maximize silage quality. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND UTILISATION, 1., 2009, Piracicaba. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p. 189-208.

HONIG, H.; PAHLOW, G.; THAYSEN, J. Aerobic instability: effects and possibilities for its prevention. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 12., 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala: ISC, 1999. p. 288-289.

HONIG, H. Reducing losses during storage and unloading of silage. **Landbauforschung Voelkenrode**. Sonderheft, v. 123, p. 116-128, 1991.

HONIG, H.; M. K. WOOLFORD. 1980. Changes in silage on exposure to air. Pages 76-87 in Proc. Occasional Symp. EGF Forage Conservation in the 80's. Br. Grassl. Soc. Hurley, UK.

JONSSON, A. (1989). The role of yeasts and clostridia in silage deterioration. PhD thesis, Swedish University of Agricultural Science, Report 42. Uppsala, Sweden.

KOEHLER, B. et al. Dry matter losses of grass, lucerne and maize silages in bunker silos. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 145-150, 2013.

KUNG, L. et al. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 4020-4033, 2018.

LINDGREN, S. et al. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 36, n. 9, p. 765-774, 1985.

LINDGREN, S.; PAHLOW, G.; OLDENBURG, E. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 19., 2002, La Rochelle. **Proceedings...** La Rochelle, 2002. p. 503-511.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. Microorganisms. In: McDONALD, P. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Aberystwyth, UK: Chalcombe Publications, 1991. p. 81-152.

MUCK, L.; MOSER, M. R.; PITT, R. E. Postharvest factors affecting ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p. 251-304. (Series Agronomy, 42).

O'KIELY, P.; MUCK, R. E. Aerobic deterioration of lucerne (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mais*) silages—effects of yeasts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 59, n. 2, p. 139-144, 1992.

PAHLOW, G. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p. 31-93.

PARSONS, D. J. Modelling gas flow in a silage clamp after opening. **Journal of Agricultural Engineering Research**, London, v. 50, p. 209-218, 1991.

PITT, R. E.; MUCK, R. E. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, London, v. 55, n. 1, p. 11-26, 1993.

PITT, R. E. Dry matter losses due to oxygen infiltration in silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, London, v. 35, n. 3, p. 193-205, 1986.

REES, D. V. H.; AUDSLEY, E.; NEALE, M. A. Some physical properties that affect the rate of diffusion of oxygen into silage. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 100, n. 3, p. 601-605, 1983.

RUPPEL, K. A. et al. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 1, p. 141-153, 1995.

SCHMIDT, P. et al. Concentration of mycotoxins and chemical composition of corn silage: a farm survey using infrared thermography. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 9, p. 6609-6619, 2015.

SCHROEDER, J. W. **Silage fermentation and preservation**. Fargo, North Dakota: NDSU Extension Service, 2004.

SPOELSTRA, S. F.; COURTIN, M. G.; VAN BEERS, J. A. C. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 111, n. 1, p. 127-132, 1988.

TABACCO, E.; BORREANI, G. Come contrastare il deterioramento aerobico negli insilati di mais: how to prevent aerobic deterioration of maize silage. **L'Informatore Agrario**, Verona, v. 58, n. 15, p. 105-111, 2002.

VISSERS, M. M. M. et al. Concentrations of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 2, p. 928-936, 2007a.

VISSERS, M. M. M. et al. Minimizing the level of butyric acid bacteria spores in farm tank milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 7, p. 3278-3285, 2007b.

WEINBERG, Z. G.; ASHBELL, G. Changes in gas composition in corn silages in bunker silos during storage and feedout. **Canadian Agricultural Engineering**, Ottawa, v. 36, n. 3, p. 155, 1994.

WEINBERG, Z. G.; ASHBELL, G. Engineering aspects of ensiling. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 13, n. 2-3, p. 181-188, 2003.

WEINBERG, Z. G. et al. Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. **Grassland Science**, Tochig, v. 57, n. 1, p. 46-50, 2011.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 68, n. 1, p. 1-19, 2013.

WILLIAMS, A. G.; LOWE, J. F.; REES, D. V. H. The effect of oxygen concentration on changes in the microbial population, temperature and dry-matter content in grass silage. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 49, n. 2, p. 183-191, 1994.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effect of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 68, n. 2 p. 101-116, 1990.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 – O USO DO pH COMO UM MÉTODO PARA IDENTIFICAR A DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO EM CONDIÇÕES DE FAZENDA

RESUMO

O objetivo do estudo foi o de avaliar o pH da silagem como um método para detectar a deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de campo. A pesquisa foi realizada em 53 fazendas brasileiras e em 44 fazendas italianas. Antes da amostragem no painel do silo, a temperatura da silagem foi medida em três pontos no topo do silo a 200 mm de profundidade e em um ponto no centro a 400 mm de profundidade. A temperatura da silagem no centro do silo foi definida como temperatura referência (T_{ref40}). A diferença entre a temperatura da silagem e a T_{ref40} foi utilizada como um índice de aquecimento da silagem, o qual está associado com a deterioração aeróbia (dT_{ref40}). Para a avaliação do pH foram coletadas a 200 mm de profundidade três amostras no topo e uma amostra no centro no silo (definida como pH referência). A diferença entre o pH da amostra do topo e o pH referência foi utilizado como um índice associado com a deterioração aeróbia da silagem (dpH). A concentração de matéria seca, os produtos finais da fermentação e a contagem microbiana também foram determinadas. Para identificar a ocorrência de silagem deteriorada, os seguintes parâmetros foram considerados: $dT_{ref40} \geq 5^{\circ}\text{C}$, contagem de leveduras no topo $\geq 5 \log \text{ufc/g}$ e contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$. Cada parâmetro foi testado dentro de quatro faixas de dpH: <0,15, 0,15-0,19, 0,20-0,24 e $\geq 0,25$ (descritas como, dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente) através do teste exato de Fisher a 5% de probabilidade por meio do PROC FREQ do SAS. A média, mínimo e máximo das variáveis foram calculadas utilizando o PROC MEANS do SAS. Em média o pH e a contagem de leveduras e fungos filamentosos das silagens do topo foram de 4,18, 3,86 e 2,46 $\log \text{ufc/g}$, respectivamente. O dpH variou de -0,22 a 3,76 e o dT_{ref40} variou de -11,9 a 29,4°C. Contagens de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$ foram encontradas em 10,6, 20,0, 54,6 e 72,4% das silagens localizadas em dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente, ($P < 0,001$). A contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$ foram encontrados em 17,0, 40,0, 45,5 e 69,0% das silagens localizadas em dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente, ($P < 0,001$). E o $dT_{ref40} \geq 5^{\circ}\text{C}$ foi encontrado em 15,2, 30,0, 36,4 e 86,2% das silagens localizadas em dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente, ($P < 0,001$). O estudo mostrou que o dpH pode ser utilizado juntamente com o dT_{ref40} para identificar a deterioração aeróbia em silagens de milho em condições de fazenda. O dpH maior que 0,25 demonstra que a deterioração pode estar começando e, portanto, boas práticas de manejo durante o desabastecimento do silo devem ser adotadas.

Palavras-chave: Silagem deteriorada. pH da silagem. Desabastecimento do silo

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the silage pH as a method to detect the aerobic deterioration of corn silage under field conditions. The study was conducted in 53 dairy farms in Brazil and on 44 dairy farms in Italy. Before sampling, the silage temperature was measured at three points at the top of the silo at 200 mm depth and in the center of the silo face at 400 mm depth. The silage temperature in the center of was defined as the reference temperature (T_{ref40}). The difference between silage temperature and T_{ref40} was used as a heating index, which is associated with aerobic deterioration (dT_{ref40}). For the pH evaluation, three samples at the top and one sample at the center of the silo (defined as reference pH) were collected at 200 mm depth. The difference between the pH of the top sample and the reference pH was used as an index associated with the aerobic deterioration of silage (dpH). Dry matter concentration, fermentation end products and yeast and molds counts were also determined. To identify silage spoilage, the following parameters were considered: $dT_{ref40} \geq 5^{\circ}\text{C}$, yeast counts $\geq 5 \log \text{cfu/g}$, and mold counts $\geq 2 \log \text{cfu/g}$. Each parameter was tested within four ranges of dpH: <0.15 , $0.15-0.19$, $0.20-0.24$ and ≥ 0.25 (described as, dpH1, dpH2, dpH3 and dpH4, respectively) through Fisher's exact test at 5% probability by PROC FREQ of SAS. The mean, minimum and maximum variables were calculated using the PROC MEANS of SAS. The mean pH, yeast and molds counts of the top silages were 4.18, 3.86 and 2.46 $\log \text{cfu/g}$, respectively. The dpH ranged from -0.22 to 3.76 and the dT_{ref40} ranged from -11.9 to 29.4 $^{\circ}\text{C}$. The yeast count $\geq 5 \log \text{cfu/g}$ was found in 10.6, 20.0, 54.6 and 72.4% of the silages located in dpH1, dpH2, dpH3, and dpH4, respectively ($P < 0.001$). The mold counts $\geq 2 \log \text{cfu/g}$ was found in 17.0, 40.0, 45.5 and 69.0% of the silages located in dpH1, dpH2, dpH3, and dpH4, respectively ($P < 0.001$). The $dT_{ref40} \geq 5^{\circ}\text{C}$ was found in 5.2, 30.0, 36.4 and 86.2% of the silages located in dpH1, dpH2, dpH3, and dpH4, respectively ($P < 0.001$). The study showed that dpH can be used together with dT_{ref40} to detect aerobic deterioration in corn silage under farm conditions. The dpH greater than 0.25 demonstrates that aerobic deterioration may be starting and therefore good practices during the unloading should be adopted.

Keywords: Silage spoilage. Silage pH. Unloading

1 INTRODUÇÃO

A deterioração aeróbia é considerada a maior fonte de perdas no processo de produção de silagem de milho (WOOLFORD, 1990). Em silos trincheira, a maior incidência de deterioração aeróbia ocorre nas regiões superficiais e periféricas (BORREANI; TABACCO, 2010), pois são áreas de intensa troca gasosa, devido à dificuldade de compactação, o que acarreta em menor densidade comparado a região central do silo (D'AMOURS; SAVOIE, 2005).

Difícilmente, os produtores acreditam nas elevadas perdas causadas pelo problema da deterioração aeróbia, pois eles só consideram aquelas que são visíveis, o que subestima as reais perdas. A silagem mofada pode ser visualmente identificada; porém, pode haver outras partes no painel do silo em que a silagem está se deteriorando, mas visualmente não é diferente da silagem estável. Idealmente, gostaríamos de detectar todas as silagens deterioradas para evitar que elas sejam fornecidas aos animais. A inclusão de silagem deteriorada na dieta dos animais pode aumentar a contaminação com microrganismos indesejáveis, como, fungos filamentosos e esporos de microrganismos aeróbios e anaeróbios (BORREANI et al., 2013; DUNIÈRE et al., 2013) e com micotoxinas (CAVALLARIN et al., 2011; CHELI; CAMPAGNOLI; DELL'ORTO, 2013), além de reduzir a ingestão de matéria seca (GERLACH et al., 2013) e o desempenho dos animais (QUEIROZ et al. 2012; TABACCO et al., 2011).

A avaliação precisa da qualidade microbiológica da silagem em toda a face do silo exige muitas amostras, equipamento caros, pessoal qualificado e análises laboratoriais demoradas, o que dificulta a análise rotineira na fazenda (BORREANI et al., 2018). Portanto, é necessário métodos simples para que técnicos e produtores possam avaliar com precisão e rapidez a qualidade da silagem e quantificar a extensão da deterioração aeróbia na face do silo.

Em condições de fazendas, o processo de deterioração aeróbia geralmente é manifestado pelo aumento da temperatura e pelo aparecimento de fungos nas áreas periféricas do silo (ASHBELL; WEINBERG, 1992). Borreani e Tabacco (2010) propuseram um índice de aquecimento, o dT_{ref40} , para detectar a deterioração aeróbia em condições de campo, no qual, utiliza a temperatura do centro do silo como referência em relação as demais localidades do painel que deseja ser avaliada. Segundo esses autores, quando a temperatura da silagem de qualquer ponto do painel for superior à 5°C em relação a temperatura do centro há fortes indícios de deterioração aeróbia.

Experiências práticas têm mostrado que mais variáveis devem ser medidas para que se possa confirmar a ocorrência de deterioração aeróbia da silagem em condições de campo.

Durante o abastecimento e logo após a vedação do silo, também pode ocorrer produção de calor como resultado do processo respiratório que é possibilitado pela alta quantidade de oxigênio retida na massa de forragem, principalmente, se a operação de abastecimento for prolongada (WOOLFORD, 1990). Devido ao grande volume de forragem armazenada, a dissipação do calor no centro do silo é lenta, e portanto, a temperatura da silagem na região central do silo pode permanecer mais alta que a temperatura da silagem no topo. Desse modo, quando apenas o método da temperatura proposto por Borreani e Tabacco (2010) é utilizado, o calor produzido pela respiração da forrageira pode ser confundido com o aquecimento gerado pela deterioração aeróbia.

A deterioração aeróbia é geralmente iniciada pelas leveduras assimiladoras do lactato, que em condições aeróbias utilizam o ácido lático, podendo elevar o pH da silagem para valores mais altos que o normal (MCDONALD et al., 1991). Dessa forma, após a estabilização do processo fermentativo, as variações que podem ocorrer no pH da silagem são geralmente relacionadas ao processo de deterioração (PAHLOW et al., 2003). O pH da silagem, além de ser uma variável de fácil mensuração, ele pode ser determinado em condições de campo (BERNARDES et al., 2017). A hipótese do trabalho é que o pH pode ser uma variável útil para auxiliar na identificação da deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de campo, uma vez que suas variações podem estar ligadas a assimilação do ácido lático pelas leveduras durante o processo de deterioração. Desse modo, o objetivo do estudo foi o de avaliar o pH da silagem como um método para detectar a deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de campo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em 53 fazendas leiteiras no Brasil localizadas nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná e em 44 fazendas leiteiras localizadas no Norte da Itália. As coletas nas fazendas do Brasil ocorrem no mês de Novembro de 2015, entre os meses de Fevereiro a Dezembro de 2016, de Fevereiro a Novembro de 2017 e de Janeiro a Abril de 2018. Nas fazendas da Itália as coletas ocorreram entre os meses de Abril a Setembro de 2015. O número de vacas em lactação nas propriedades variou de 6 a 1.800 animais, com produção diária de leite entre 100 a 68.000 L/dia e produção média por animal de 24 L/vaca/dia. Fazendas que adotavam manejo adequado, regular e ruim em termos de produção de silagem foram selecionadas para assegurar que não somente silagens de alta qualidade tivessem sido avaliadas.

Em cada fazenda visitada apenas um silo trincheira de silagem de milho que estava sendo desabastecido foi utilizado para fazer as avaliações. O painel de cada silo foi dividido ao meio (metade da largura) e apenas uma metade foi utilizada para fazer as avaliações e a coleta das amostras.

Antes de realizar a amostragem no painel do silo, a temperatura da silagem foi medida a 200 mm de profundidade em três pontos localizados no topo do silo e em um ponto no centro do silo (metade da altura e metade da largura) a 400 mm de profundidade, conforme a Figura 1. Para isso, foi utilizado um termômetro digital acoplado a uma sonda (Dostmann electronic GmbH, modelo Série P700, Alemanha). A temperatura da silagem localizada no centro do silo medida a 400 mm de profundidade foi definida como a temperatura de referência (T_{ref40}), e a diferença entre a temperatura da silagem do topo e a T_{ref40} foi utilizada como um índice de aquecimento associado com a deterioração aeróbia (dT_{ref40} ; BORREANI; TABACCO, 2010).

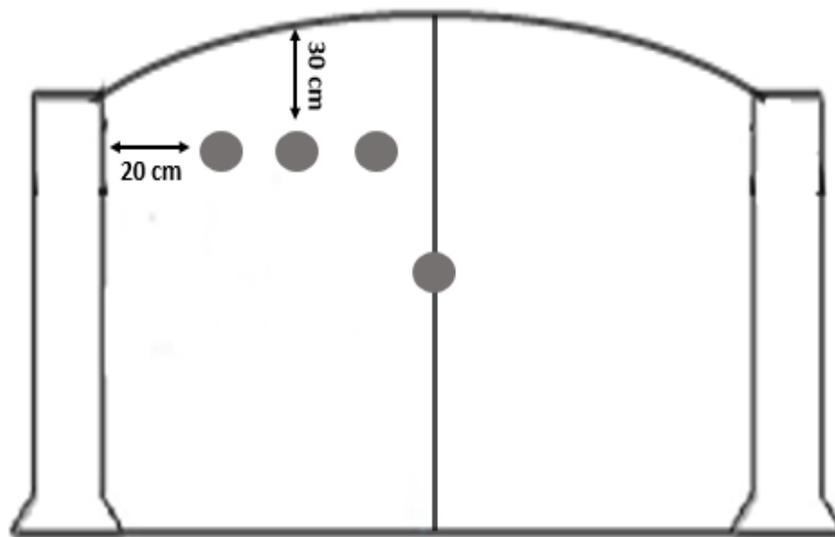


Figure 1. A frontal view of the bunker silo showing the locations where the silage temperature was measured and the samples collected. Top samples were collected at 20 cm from the wall and at 30 cm from the top and the center sample (reference) was collected in the central zone of the silo (half height and half width).

Para avaliar o pH da silagem, foram coletadas três amostras no topo do silo a 200 mm de profundidade e uma amostra no centro (metade da altura e metade da largura) também a 200 mm de profundidade (definida como pH referência), conforme a Figura 1. A diferença entre o pH da amostra do topo e o pH referência foi utilizado como um índice associado com a deterioração aeróbia da silagem (dpH). Para coletar as amostras foi utilizada uma furadeira elétrica acoplada a uma probe de 46 mm de diâmetro e 227 mm de comprimento, e em seguida

as amostras coletadas foram embaladas e seladas a vácuo. Nas mesmas amostras que foram utilizadas para analisar o pH da silagem também foram avaliadas a contagem de leveduras e fungos filamentosos, os produtos finais da fermentação e a concentração de matéria seca (MS).

As amostras coletadas foram subdivididas em três subamostras. A primeira subamostra foi utilizada para determinar a concentração de MS das silagens, a qual foi levada à estufa de ventilação forçada à 60°C por 72 horas, conforme a Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990).

A segunda subamostra foi utilizada para avaliar o pH, os ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) e álcoois (etanol e 1,2-propanodiol). Para isso, foi preparado um extrato aquoso contendo 30 g de amostra de silagem e 270 g de água destilada, homogeneizado durante quatro minutos a 200 rpm no aparelho Stomacher (modelo Stomacher® 400, Seward). O pH foi medido utilizando um eletrodo específico, acoplado a um aparelho multiparâmetro (Thermo Scientific Orion Star A214 pH / ISE). Na determinação dos ácidos orgânicos e dos álcoois foi utilizada a cromatografia líquida de alta precisão (Shimadzu LC 10 Ai; Shimadzu Corp, Tokyo, Japão). Dois ml do extrato aquoso foram alocados em eppendorfs contendo 0,01 ml de ácido sulfúrico 50%, e posteriormente levados ao laboratório para centrifugação, filtragem e injeção. Para a leitura dos ácidos orgânicos foi utilizado o detector de radiação ultra violeta (UV-vis) com comprimento de onda de 210 nm e para os álcoois, um detector de índice de refração (RID; 10A SPD-10Ai). O aparelho foi equipado com uma coluna de exclusão de íon (SUPELCO – SUPELCOGEL 8H 30 cm x 7,8mm) e pré coluna (SUPELCO – SUPELCOGEL 8H 5 cm x 4,6 mm) operando a 30°C com um fluxo de corrida de 0,6ml/min com fase móvel água e ácido sulfúrico 0,005M.

A terceira subamostra foi destinada para a contagem de leveduras e fungos filamentosos. Para isso, foi preparado um extrato aquoso com 30 g de amostra e 270 g de água peptonada que foi homogeneizado durante quatro minutos a 200 rpm, utilizando o aparelho Stomacher (modelo Stomacher® 400, Seward). As contagens foram feitas utilizando a técnica de plaqueamento em superfície com o meio de cultura YGC Ágar (Fluka, Sigma Aldrich Química Brasil LTDA), onde foram preparadas diluições em série e duplicata. As placas de Petri foram incubadas a 28°C durante três e cinco dias para leveduras e fungos filamentosos, respectivamente, e posteriormente foi realizada a contagem das colônias, com base em suas características macroscópicas (TABACCO et al., 2009).

Para realizar a análise estatística dos dados foi considerada a média das amostras coletadas no topo, e as contagens microbianas foram transformadas para \log_{10} para obter uma distribuição normal dos dados. Inicialmente, a média, o valor máximo e mínimo, o desvio

padrão e o intervalo de confiança à 95% de probabilidade de todos dados forma calculados utilizando o procedimento PROC MEANS do SAS (2004). Em seguida, foi realizada a análise de correlação do dpH e do pH com os dados de contagem microbiana, dT_{ref40} e concentração de ácido láctico das silagens do topo através da correlação de Pearson a 5% de probabilidade, utilizando o procedimento PROC CORR do SAS (2004).

Para identificar a ocorrência de deterioração aeróbia nas silagens do topo, os seguintes parâmetros foram considerados: $dT_{ref40} \geq 5^{\circ}\text{C}$ (BORREANI; TABACCO, 2010), contagem de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$ (WOOLFORD, 1990) e contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$ (crescimento de fungos filamentosos na silagem). Cada parâmetro foi testado dentro de quatro faixas de dpH: $<0,15$, $0,15-0,19$, $0,20-0,24$ e $\geq 0,25$ (descritas como dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente). Para isso foi realizado o teste exato de Fisher a 5% de probabilidade utilizando o PROC FREQ do SAS (2004).

3 RESULTADOS

Os dados de concentração de MS, contagem microbiana, pH, produtos finais da fermentação e os valores de dpH e dT_{ref40} localizados no centro e topo dos silos estão apresentados na Tabela 1. As silagens localizadas no centro do silo continham em média 34,1% de MS. O valor de pH das silagens do centro foi em média de 3,80, com um intervalo de confiança de 3,78 a 3,83 e a concentração de ácido láctico foi em média de 5,09%, com intervalo de confiança de 4,67 a 5,52%. A contagem média (mínimo e máximo) de leveduras e fungos filamentosos das silagens do centro foi de 1,78 log ufc/g (1,00 - 6,07) e 1,20 log ufc/g (1,00 - 3,08), respectivamente.

As silagens do topo apresentaram em média 32,0% de MS. A média (mínimo e máximo) do valor de pH, concentração de ácido láctico, contagem de leveduras e fungos filamentosos das silagens do topo foram de 4,18 (3,64 - 7,54), 3,40% (0,00 - 8,95), 3,86 log ufc/g (1,00 - 7,80) e 2,46 log ufc/g (1,00 - 7,66), respectivamente. Quanto aos índices associados com a deterioração aeróbia da silagem, o dpH variou de -0,22 a 3,76, com valor médio de 0,38 e o dT_{ref40} variou de -11,9 a 29,4°C, com valor médio de 5,51°C.

Table 1. Dry matter concentration, pH, fermentation end products, microbial counts, dpH e dT_{ref 40} of corn silages located in the center and at the top of bunker silos

Item	Center					Top				
	Mean	Minimum	Maximum	Standard deviation	Confidence interval	Mean	Minimum	Maximum	Standard deviation	Confidence interval
DM (%)	34.1	22.1	43.9	4.09	33.3 – 34.9	32.0	16.4	44.4	5.16	31.0 - 33.1
pH	3.80	3.45	4.15	0.14	3.78 – 3.83	4.18	3.64	7.54	0.74	4.04 -4.33
Lactic acid (% DM)	5.09	1.09	11.9	2.10	4.67 – 5.52	3.40	0.00	8.95	2.06	2.98 – 3.81
Acetic acid (% DM)	2.19	0.12	6.88	1.37	1.92 – 2.47	2.12	0.00	10.3	1.78	1.76– 2.48
Propionic acid (% DM)	0.35	0.00	1.49	0.33	0.28 – 0.42	0.45	0.00	1.55	0.34	0.38 – 0.52
Butyric acid (% DM)	0.01	0.00	0.38	0.06	0.00 – 0.02	0.07	0.00	1.65	0.22	0.02 – 0.11
Ethanol (% DM)	0.61	0.00	2.74	0.49	0.51 – 0.71	0.33	0.00	2.47	0.39	0.25 – 0.41
1.2 Propanediol (% DM)	0.59	0.00	2.78	0.63	0.46 – 0.72	0.34	0.00	2.72	0.45	0.24 – 0.43
Yeast (log cfu/g)	1.78	1.00	6.07	1.15	1.55 – 2.01	3.86	1.00	7.80	2.18	3.42 – 4.30
Molds (log cfu/g)	1.20	1.00	3.08	0.42	1.11 – 1.29	2.46	1.00	7.66	1.98	2.06 – 2.86
dpH	-	-	-	-	-	0.38	-0.22	3.76	0.76	0.23 – 0.54
dT _{ref 40} (°C)	-	-	-	-	-	5.51	-11.9	29.4	9.69	3.55 – 7.48

dpH - difference between the pH sample and the reference pH collected of the core of the silage at 200 mm behind the silage working face; dT_{ref40} - difference between silage temperature and reference temperature of the core of the silage measured at 400 mm behind the silage working face.

A correlação entre os dados de dpH e pH com a contagem microbiana, dT_{ref40} e a concentração de ácido láctico das silagens localizadas no topo está apresentado na Tabela 2. Os dados de dpH e o pH foram positivamente correlacionados ($P < 0,001$) com a contagem de leveduras, fungos filamentosos e com o dT_{ref40} , enquanto que, foram negativamente correlacionados ($P < 0,001$) com a concentração de ácido láctico. Para todas as variáveis, os coeficientes de correlação foram maiores para os dados de dpH comparado com os dados de pH.

Table 2. Pearson correlation coefficients between dpH and pH with the microbial count, dT_{ref40} and the lactic acid concentration of the samples from the top of the silo

Item	Yeast	Molds	dT_{ref40}	Lactic acid
dpH	0.480**	0.558**	0.514**	-0.550**
pH	0.443**	0.499**	0.477**	-0.542**

** $P < 0.001$

A ocorrência dos parâmetros utilizados para identificar a deterioração aeróbia nas silagens do topo de acordo com as faixas de dpH estão apresentados na Figura 2. A contagens de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$ foi encontrada em 10,6, 20,0, 54,6 e 72,4% das silagens localizadas em dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente ($P < 0,001$). Já a contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$ foram encontradas em 17,0, 40,0, 45,5 e 69,0 % das silagens localizadas em dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente ($P < 0,001$). E o $dT_{ref40} \geq 5^\circ\text{C}$ foi encontrado em 15,2, 30,0, 36,4 e 86,2% das silagens localizadas em dpH1, dpH2, dpH3 e dpH4, respectivamente ($P < 0,001$).

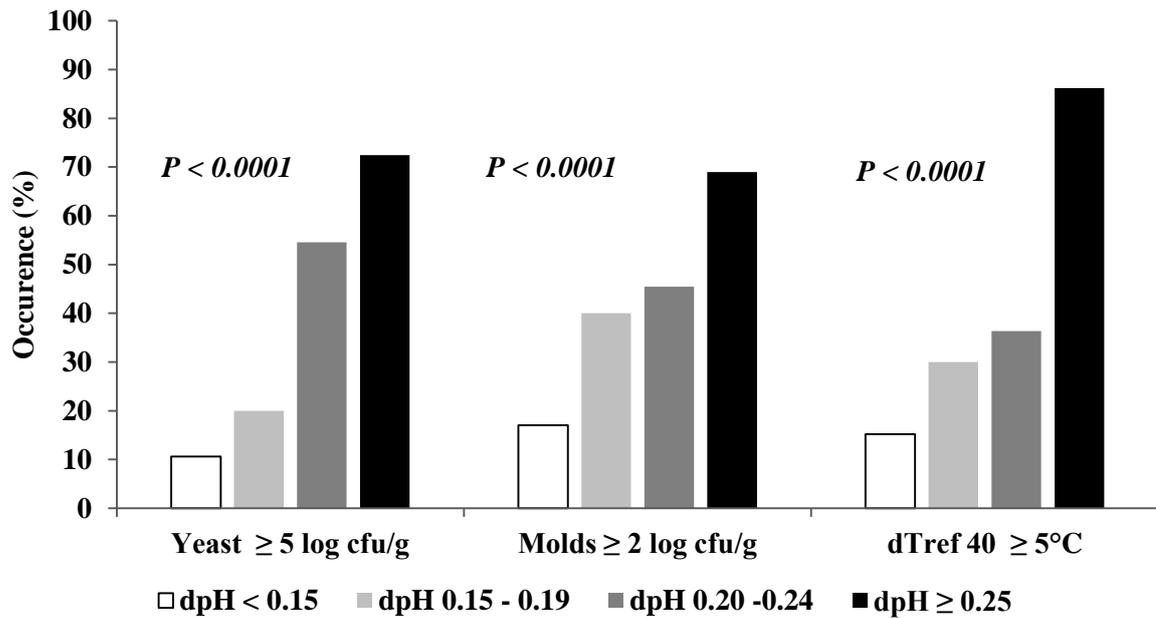


Figure 2. Occurrence of yeast counts ≥ 5 log cfu/g and mold counts ≥ 2 log cfu/g in corn silages located at the top of bunkers and $dT_{ref\ 40} \geq 5^{\circ}\text{C}$ (difference between the temperature of the silage at the top and the reference temperature) according to different ranges of dpH. dpH = the difference between the pH sample and the reference pH (pH value from the central core of the silo). The statistical significance was obtained using the Fisher's exact test.

4 DISCUSSÃO

A identificação da deterioração aeróbia em seus estágios iniciais é de fundamental importância para que técnicos e produtores possam fazer o descarte de silagem deteriorada, evitando que ela seja fornecida aos animais, além de, poder melhorar as práticas de manejo para evitar que o processo de deterioração continue.

Borreani e Tabacco (2010) criaram um índice de aquecimento (dT_{ref40}) através da medição da temperatura da silagem para identificar o processo de deterioração aeróbia em condições de campo. O principal problema do uso desse índice de aquecimento, é que, em alguns casos têm sido observado que a temperatura da silagem da área central do silo (temperatura de referência) é maior que a temperatura da silagem localizada no topo. A maior temperatura na região central do silo pode ser proveniente do calor produzido pela respiração da forrageira no momento do abastecimento do silo ou logo após a vedação, que é possibilitado pela alta quantidade de oxigênio retida na massa de forragem, principalmente, quando a operação de abastecimento é prolongada (WOOLFORD, 1990). Nesse caso, a temperatura da região central pode permanecer alta por um longo período de tempo, principalmente em silos maiores, pois a grande massa de forragem age como um isolante, resultando em dissipação lenta

de calor (KUNG et al., 2018). Desse modo, é possível observar que mesmo em condições onde exista o processo de deterioração aeróbia da silagem o valor de dT_{ref40} ainda é baixo. Para tentar resolver esse problema, o pH foi testado nesse estudo como um índice para ajudar na identificação da deterioração aeróbia em seu estágio inicial.

As leveduras que assimilam o lactato são geralmente as iniciadoras do processo de deterioração aeróbia das silagens, pois alguns gêneros são ácido tolerantes e utilizam o ácido láctico em seu metabolismo aeróbio (PAHLOW et al., 2003). O consumo do ácido láctico e de outros açúcares residuais pelas leveduras resulta no aumento da temperatura e do pH da silagem (WOOLFORD, 1990). Estudos têm mostrado que durante o processo de deterioração aeróbia o aumento mais acentuado da temperatura e do pH da silagem ocorre quando a contagem de leveduras é superior a 5 log ufc/g (TABACCO et al., 2009; VISSERS et al., 2007). Este valor é consistente com o valor sugerido por Woolford (1990), que segundo o autor, silagens com uma população de leveduras superior a 5 log ufc/g são particularmente propensas à deterioração aeróbia. No trabalho de Borreani e Tabacco (2010), em que foi criado o índice de aquecimento dT_{ref40} , os autores constataram que quando o dT_{ref40} das silagens das áreas periféricas e das áreas visivelmente deterioradas foi maior que 5°C, a contagem de leveduras também foi superior a 5 log ufc/g e o pH foi maior que 4,5.

Neste estudo, a contagem de levedura foi ≥ 5 log ufc/g em 34 silagens do topo, sendo que a maioria dessas silagens (27/34 silagens) também apresentavam valores de $dT_{ref40} \geq 5^\circ\text{C}$. No entanto, valores de pH maior que 4,5 só foram encontradas em 12 das 27 silagens que apresentavam contagem de leveduras ≥ 5 log ufc/g associadas com $dT_{ref40} \geq 5^\circ\text{C}$. Por outro lado, a maioria dessas silagens que apresentavam contagem de leveduras ≥ 5 log ufc/g associadas com $dT_{ref40} \geq 5^\circ\text{C}$ já apresentavam alterações nos valores de pH em relação ao pH referência (pH da amostra do centro do silo). A partir dessas observações é que foi sugerido o uso do dpH para ajudar a identificar o processo de deterioração aeróbia, em vez de utilizar somente o valor de pH. Além disso, os valores de dpH foram melhores correlacionados com a contagem dos microrganismos deterioradores, com os valores de dT_{ref40} e com a concentração de ácido láctico, do que os próprios valores de pH.

Nossos resultados mostraram que 72,4% das silagens apresentaram contagem de leveduras ≥ 5 log ufc/g quando o dpH foi $\geq 0,25$. Este valor de dpH também mostrou que 86,2% das silagens apresentaram $dT_{ref40} \geq 5^\circ\text{C}$ e 69,0% das silagens tinham contagem de fungos filamentosos ≥ 2 log ufc/g. De um modo geral, podemos observar que o valor de dpH $\geq 0,25$ representou claramente o processo de deterioração aeróbia, que começa com o crescimento das leveduras, seguido por aumento da temperatura e do pH da silagem, causado pela atividade

microbiana, e após o aumento da temperatura e do pH é que os fungos filamentosos começam a se desenvolver (contagem $\geq 2 \log \text{ufc/g}$) na massa ensilada (TABACCO et al., 2009). No entanto, segundo Kung et al. (2018) deve-se ter cuidado ao interpretar a contagem de leveduras e fungos filamentosos nas silagens, pois quando o processo de deterioração é muito intenso esses microrganismos podem morrer devido ao esgotamento de substrato e, conseqüentemente, suas populações na silagem pode ser baixa. Além disso, especialmente em silagens de milho, o *Acetobacter sp.* pode iniciar a deterioração aeróbia (SPOELSTRA et al., 1988), consumindo o ácido láctico o que eleva a temperatura e o pH da silagem (DOLCI et al., 2011).

Os dados desta pesquisa mostraram que o dpH pode ser utilizado como um índice associado a deterioração aeróbia, pois ele está relacionado com a atividade das leveduras e fungos filamentosos e com o aumento da temperatura da silagem durante o processo de deterioração. No entanto, o dpH e o $dT_{\text{ref}40}$ devem ser combinados para detectar o processo de deterioração aeróbia da silagem na fazenda, uma vez que são métodos rápidos e fáceis e quando analisados juntos podem melhorar a confiabilidade dos resultados.

5 CONCLUSÃO

O dpH pode ser utilizado juntamente com $dT_{\text{ref}40}$ para ajudar técnicos e produtores a identificar o processo de deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de campo. Os valores de dpH maior ou igual a 0,25 demonstra que a deterioração aeróbia pode estar começando e, portanto, as práticas de manejo durante a fase de desabastecimento do silo devem ser melhoradas.

REFERÊNCIAS

- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G. Top silage losses in horizontal silos. **Canadian Agricultural Engineering**, Ottawa, v. 34, n. 2, p. 171-175, 1992.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists**. 15th ed. Arlington, 1990. 1117 p.
- BERNARDES, T. F. et al. How to measure pH in low dry matter silages. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 54. 2017, Foz do Iguaçu, PR. Anais... Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2017.
- BORREANI, G. et al. Aerobic deterioration stimulates outgrowth of spore-forming *Paenibacillus* in corn silage stored under oxygen-barrier or polyethylene films. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 8, p. 5206-5216, 2013.
- BORREANI, G. et al. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 3952-3979, 2018.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 6, p. 2620-2629, 2010.
- CAVALLARIN, L. et al. Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as a result of aerobic exposure. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 13, p. 2419-2425, 2011.
- CHELI, F.; CAMPAGNOLI, A.; DELL'ORTO, V. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 183, n. 1-2, p. 1-16, 2013.
- D'AMOURS, L.; SAVOIE, P. Density profile of corn silage in bunker silos. In: **2005 ASAE Annual Meeting**. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2005. p. 1.
- DOLCI, P. et al. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 21, p. 7499-7507, 2011.
- DUNIÈRE, L. et al. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 182, n. 1-4, p. 1-15, 2013.
- GERLACH, K. et al. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 168-181, 2013.
- KUNG, L. et al. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 4020-4033, 2018.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. Microorganisms. In: McDONALD, P. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Aberystwyth, UK: Chalcombe Publications, 1991. p. 81-152.

PAHLOW, G. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p. 31-93.

QUEIROZ, O. C. M. et al. Effect of a dual-purpose inoculant on the quality and nutrient losses from corn silage produced in farm-scale silos. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 3354-3362, 2012.

SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Version 9.1 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

SPOELSTRA, S. F.; COURTIN, M. G.; VAN BEERS, J. A. C. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 111, n. 1, p. 127-132, 1988.

TABACCO, E. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 107, n. 5, p. 1632-1641, 2009.

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**, Champaign, v. 94, n. 3, p. 1409-1419, 2011.

VISSERS, M. M. M. et al. Concentrations of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 2, p. 928-936, 2007.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effect of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 68, n. 2 p. 101-116, 1990.

ARTIGO 2 – UM NOVO MÉTODO DE RECOMENDAR A TAXA DE RETIRADA DE SILAGENS DE MILHO ESTOCADAS EM SILOS TRINCHEIRA

RESUMO

O objetivo do estudo foi o de encontrar uma taxa de retirada da silagem que considera a densidade para evitar a deterioração aeróbia de silagens de milho em condições de fazenda. A pesquisa foi realizada em 53 fazendas brasileiras e em 44 italianas. Primeiramente, a temperatura da silagem foi medida a 200 mm de profundidade em três pontos no topo do silo e em um ponto no centro a 400 mm de profundidade. A temperatura da silagem no centro foi definida como a temperatura de referência (T_{ref40}). A diferença entre a temperatura da silagem e a T_{ref40} foi utilizada como um índice de aquecimento associado com a deterioração aeróbia (dT_{ref40}). Para determinar a contagem microbiana, os produtos finais da fermentação e o pH foram coletadas três amostras no topo e uma amostra no centro do silo. A diferença entre o pH do topo e o pH do centro (referência) foi utilizado como um índice associado com a deterioração aeróbia da silagem (dpH). A área do painel de cada silo foi calculada e o consumo de silagem foi registrado para determinar a taxa de retirada da silagem em kg por m^2 . Para realizar a análise estatística, as taxas de retirada das silagens foram divididas em cinco faixas, ≤ 70 , $> 70 - 140$, $> 140 - 210$, $> 210 - 280$ e > 280 kg/ m^2 /dia (descritas como, TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente). Os dados de contagem microbiana, pH e ácido lático das amostras do topo de cada faixa foram comparados com os valores do centro (referência) utilizando o teste “t” de “Student”, a 5% de probabilidade através do PROC MEANS do SAS. Para identificar a ocorrência de deterioração aeróbia nas silagens em cada faixa de taxa de retirada, os seguintes parâmetros foram considerados: contagem de leveduras ≥ 5 log ufc/g, contagem de fungos filamentosos ≥ 2 log ufc/g, $dT_{ref 40} \geq 5^\circ C$ e $dpH \geq 0,25$. Para isso foi realizado o teste exato de Fisher a 5% de probabilidade utilizando o PROC FREQ do SAS. A contagem microbiana, a concentração de ácido lático e o pH das silagens do topo manteve similar às silagens do centro quando a taxa de retirada foi > 280 kg/ m^2 /dia. A contagem de leveduras foi ≥ 5 log ufc/g em 62,5, 36,0, 30,0, 56,3 e 0,0% das silagens em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P = 0,0001$). Contagens de fungos filamentosos ≥ 2 log ufc/g estavam presentes em 68,7, 52,0, 35,0, 37,5 e 0,0% das silagens em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P = 0,0001$). Valores de $dpH \geq 0,25$ foram encontrados em 56,3, 36,0, 40,0, 18,7 e 0,0% das silagens em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P = 0,0007$). O $dT_{ref 40} \geq 5^\circ C$ foi encontrado em 75,0, 60,0, 40,0, 31,3 e 0,0% das silagens em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P < 0,0001$). A taxa de retirada da silagem maior que 280 kg/ m^2 /dia foi capaz de reduzir o risco de deterioração aeróbia em silagens de milho.

Palavras-chave: Silagem de milho. Deterioração aeróbia. Taxa de retirada

ABSTRACT

The objective of the study was to find a feed-out rate, which considers silage density, to prevent aerobic deterioration of corn silage under farm conditions. The study was conducted on 53 Brazilian farms and 44 Italian farms. The silage temperature was measured at 200 mm depth at three points at the top of the silo and in the center of the silo at 400 mm depth. The silage temperature in the center was defined as the reference temperature (T_{ref40}). The difference between silage temperature and T_{ref40} was used as a heating index associated with aerobic deterioration (dT_{ref40}). Three samples at the top of the silo and one at the center were collected to determine the microbial count, final fermentation products and pH. The difference between the top pH and the center pH (reference) was used as an index associated with aerobic deterioration of silage (dpH). The area of the face of each silo was calculated and the silage consumption was recorded to determine the feed-out rate in $kg/m^2/day$. For the statistical analysis, the silage feed-out rates were divided into five ranges, ≤ 70 , $> 70 - 140$, $> 140 - 210$, $> 210 - 280$ and > 280 $kg\ m^2/day$ (described as TR1, TR2, TR3, TR4 and TR5, respectively). Microbial count, pH and lactic acid data from the top samples of each range were compared to the center (reference) values using Student's 't'-test at a 5% probability using the PROC MEANS of SAS. To identify the occurrence of aerobic deterioration in the silages at each range of feed-out rate, the following parameters were considered: yeast count ≥ 5 log cfu/g, mold count ≥ 2 log cfu/g, $dT_{ref\ 40} \geq 5^\circ C$ and $dpH \geq 0.25$. For this, Fisher's exact test at 5% probability was performed using the PROC FREQ of SAS. The microbial count, lactic acid concentration and pH of the top silages remained similar to the center silages when the feed-out rate was > 280 $kg/m^2/day$. The yeast count was ≥ 5 log cfu/g in 62.5, 36.0, 30.0, 56.3 and 0.0% of the silages in TR1, TR2, TR3, TR4 and TR5, respectively ($P = 0.0001$). Molds counts ≥ 2 log cfu/g were present in 68.7, 52.0, 35.0, 37.5 and 0.0% of the silages in TR1, TR2, TR3, TR4 and TR5, respectively ($P = 0.0001$). Values of $dpH \geq 0.25$ were found in 56.3, 36.0, 40.0, 18.7 and 0.0% of the silages in TR1, TR2, TR3, TR4 and TR5, respectively ($P = 0.0007$). The $dT_{ref\ 40} \geq 5^\circ C$ was found in 75.0, 60.0, 40.0, 31.3 and 0.0% of the silages in TR1, TR2, TR3, TR4 and TR5, respectively ($P < 0.0001$). The feed-out rate greater than 280 $kg/m^2/day$ reduced the risk of aerobic deterioration in corn silages.

Keywords: Corn silage. Aerobic deterioration. Feed-out rate

1 INTRODUÇÃO

A principal preocupação na fase de desabastecimento do silo é a deterioração aeróbia da silagem, devido à penetração do oxigênio na massa ensilada. Em contraste com as perdas superficiais que ocorrem durante a fase de armazenamento, o ar exerce um efeito mais pronunciado durante a etapa de desabastecimento, pois, nesta fase a exposição da silagem ao oxigênio é inevitável (PAHLOW et al., 2003; VISSERS et al., 2007).

A deterioração aeróbia é considerada um problema significativo na qualidade da silagem de milho em todo o mundo (BORREANI et al., 2018). O processo de deterioração da silagem acarreta em perdas de matéria seca e de nutrientes (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Quando fornecida aos animais, a silagem deteriorada é muitas vezes parcial ou completamente recusada (GERLACH et al., 2013) e, se consumida, ela pode ter consequências negativas para a saúde animal devido a transferência de microrganismos patogênicos (DRIEHUIS, 2013; LINDGREN; PAHLOW; OLDENBURG, 2002). A deterioração aeróbia da silagem também pode causar problemas aos seres humanos devido à transferência de patógenos da silagem para produtos de origem animal, como o leite (OGUNADE et al., 2016). Além disso, a deterioração aeróbia resulta em perdas econômicas tanto devido ao descarte de silagem deteriorada quanto ao trabalho necessário para descartá-la (BORREANI; TABACCO, 2014).

Sabendo que a exposição da silagem ao oxigênio durante o desabastecimento do silo é um problema, deve-se buscar alternativas que possam reduzir o processo da deterioração aeróbia a fim de se produzir silagem de qualidade. Uma forma de controlar a penetração do oxigênio na massa ensilada e, conseqüentemente, evitar a deterioração aeróbia no desabastecimento do silo é por meio da taxa de retirada da silagem (BORREANI; TABACCO, 2012). Uma vez que, a alta taxa de retirada reduz o período de exposição da silagem ao oxigênio e o tempo que os microrganismos deterioradores têm para crescer e causar perdas.

A recomendação de uma correta taxa de retirada para prevenir a deterioração aeróbia, deve-se considerar a densidade da silagem. A densidade e a taxa de retirada determinam juntas o quanto uma silagem é exposta ao oxigênio antes da remoção (MUCK et al., 2003). Até o momento, as recomendações da taxa de desabastecimento do silo são baseadas no avanço linear do painel do silo (m/dia ou m/semana) que foram propostas por meio de observações empíricas ou baseadas em dados obtidos de modelos matemáticos, como o de Pitt e Muck (1993). No entanto, esses tipos de recomendações da taxa de retirada podem ser falhos, visto que, em condições de fazenda as silagens variam quanto a sua densidade, portanto, a recomendação da

taxa de retirada da silagem não deve ser baseada apenas no avanço linear, e os modelos, apesar de fornecerem bons dados para condições definidas, eles podem não ser relevantes para estimar perdas em condições de fazenda.

Do ponto de vista prático, busca-se encontrar uma forma mais fácil para que o produtor possa garantir a correta taxa de retirada levando em consideração a densidade da silagem. Como a retirada da silagem está relacionada com o número de animais e o consumo (kg) deles, se torna mais fácil para o produtor utilizar a relação entre a quantidade de silagem utilizada diariamente na fazenda com a área painel do silo para que a taxa mínima de retirada seja garantida. Recomendando a taxa de retirada em kg de silagem por m² de área do painel.

A hipótese do trabalho foi que o desabastecimento do silo com a correta taxa de retirada, a qual considera a densidade da silagem, aliadas às boas práticas de manejo, pode prevenir a deterioração aeróbia da silagem. Desse modo, o objetivo do estudo foi encontrar uma taxa de retirada durante o desabastecimento do silo que considere a densidade da silagem, para evitar a deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em silos trincheira em condições de fazenda.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em 53 fazendas leiteiras no Brasil localizadas nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná e em 44 fazendas leiteiras localizadas no Norte da Itália no período de 2015 a 2018. Nos dias em que foram feitas as coletas das amostras de silagem, a temperatura ambiente registrada nas fazendas foi em média (mínimo e máximo) de 26,2°C (13,9 - 37,3) no Brasil e de 18,5°C (7,6 – 31,6) na Itália.

Fazendas que adotavam manejo adequado, regular e ruim em termos de produção de silagem foram selecionadas para assegurar que não somente silagens de alta qualidade tivessem sido avaliadas. Em cada propriedade visitada apenas um silo trincheira com silagem de milho que estava sendo desabastecido foi utilizado para fazer as avaliações. O painel de cada silo foi dividido ao meio (metade da largura) e apenas uma metade foi utilizada para fazer as avaliações e coleta das amostras.

Antes de realizar a coleta das amostras no painel do silo, a temperatura da silagem foi medida a 200 mm de profundidade em três pontos localizados no topo do silo (Figura 1), utilizando um termômetro digital acoplado a uma sonda (Dostmann electronic GmbH, modelo Série P700, Alemanha). A temperatura da silagem no centro do silo (metade da altura e metade da largura; conforme a Figura 1), também foi medida a 400 mm de profundidade e definida

como a temperatura de referência (T_{ref40}). A diferença entre a temperatura da silagem e a T_{ref40} foi utilizada como um índice de aquecimento associado com a deterioração aeróbia (dT_{ref40} ; BORREANI; TABACCO, 2010). Ao mesmo tempo também foi registrada a temperatura ambiente.

Para determinar a densidade da silagem foram coletadas nove amostras na metade do painel de cada silo e uma amostra no centro do silo (amostra referência, coletada na metade da altura e metade da largura do silo), conforme a Figura 1. As amostras foram coletadas a cerca de 200 mm de profundidade utilizando uma furadeira elétrica acoplada a uma probe de 46 mm de diâmetro e 227 mm de comprimento. O peso das amostras e o volume, obtido pelo diâmetro da probe e pela profundidade real de cada furo no painel do silo foram utilizados para calcular a densidade da silagem, de acordo com D'Amours e Savoie (2005). Após a coleta, as amostras foram imediatamente embaladas e seladas a vácuo. As três amostras do topo e a amostra do centro do silo (amostra referência) foram utilizadas para determinar a composição microbiológica (contagem de leveduras e fungos filamentosos), produtos finais da fermentação, pH e a composição química das silagens.

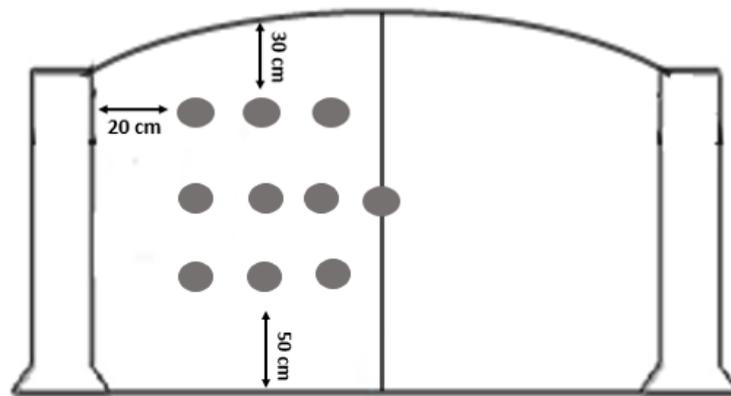


Figure 1. A frontal view of the bunker silo showing the locations where the silage temperature was measured and the samples collected.

A taxa de retirada da silagem em kg por m^2 de área do painel foi calculada utilizando o consumo diário de silagem e a área do painel. Para isso, a altura e a largura de cada silo foram medidos (conforme a Figura 2) e a área do painel foi calculada por meio da área de um trapézio e metade da área de uma elipse (área de silagem acima das paredes) de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Área do Paine}l \text{ (m}^2\text{)} = ([W1 + W2]*h1/2) + ([W1/2 + h2 + \pi]/2)$$

Onde:

W1= largura superior (m); W2 = largura inferior (m); h1 = altura do silo até na parede (m) e h2 = altura da silagem acima da parede (m).

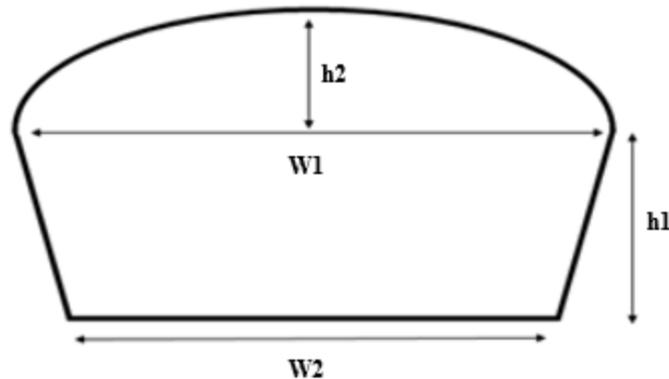


Figure 2. A frontal view of the bunker silo showing how measurements were taken to calculate silo face area. W1= larger width (m); W2 = lower width (m); h1 = wall height (m) e h2 = silage height over walls (m).

Preparo das amostras e análises

As amostras de silagem coletadas foram subdivididas em três subamostras. A primeira subamostra foi destinada para a realização das análises químicas. Esta foi levada à estufa de ventilação forçada à 60 °C por 72 horas, para determinação da matéria seca (MS), conforme a Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990) e moídas em moinho com peneira de crivo de 1 mm para posterior determinação das cinzas (AOAC, 1990), proteína bruta (PB) (AOAC, 1990), fibra em detergente neutro (FDN), utilizando α -amilase termoestável (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991) e amido (HALL; MERTENS, 2008).

A segunda subamostra foi utilizada para avaliar os ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico), álcoois (etanol e 1,2-propanodiol) e o pH. Para isso, foi preparado um extrato aquoso contendo 30 g de amostra de silagem e 270 g de água destilada, homogeneizado durante quatro minutos a 200 rpm no aparelho Stomacher (modelo Stomacher® 400, Seward). Para a determinação dos ácidos orgânicos e dos álcoois foi utilizada a cromatografia líquida de alta precisão (Shimadzu LC 10 Ai; Shimadzu Corp., Tokyo, Japão). Dois ml do extrato aquoso

foram alocadas em eppendorfs contendo 0,01 ml de ácido sulfúrico 50%, e posteriormente levados ao laboratório para centrifugação, filtragem e injeção. Para a leitura dos ácidos orgânicos foi utilizado o detector de radiação ultra violeta (UV-vis) com comprimento de onda de 210 nm e para os álcoois, um detector de índice de refração (RID; 10A SPD-10Ai). O aparelho foi equipado com uma coluna de exclusão de íon (SUPELCO – SUPELCOGEL 8H 30 cm x 7,8mm) e pré coluna (SUPELCO – SUPELCOGEL 8H 5 cm x 4,6 mm) operando a 30°C com um fluxo de corrida de 0,6ml/min com fase móvel água e ácido sulfúrico 0,005M. O pH foi medido utilizando um eletrodo específico, acoplado a um aparelho multiparâmetro (Thermo Scientific Orion Star A214 pH / ISE). A diferença entre o pH da amostra do topo e o pH da amostra localizada no centro também foi utilizado como um índice associado a deterioração aeróbia da silagem (dpH).

A terceira subamostra foi destinada para a contagem de leveduras e fungos filamentosos. Para isso, foi preparado um extrato aquoso com 30 g de amostra e 270 g de água peptonada que foi homogeneizado durante quatro minutos a 200 rpm, utilizando o aparelho Stomacher (modelo Stomacher® 400, Seward). As contagens foram feitas utilizando a técnica de plaqueamento em superfície com o meio de cultura YGC Ágar (Fluka, Sigma Aldrich Química Brasil LTDA), onde foram preparadas diluições em série e duplicata. As placas de Petri foram incubadas a 28°C durante três e cinco dias para leveduras e fungos filamentosos, respectivamente, e posteriormente foi realizada a contagem das colônias, com base em suas características macromorfológicas (TABACCO et al., 2009).

Análise Estatística

Para realizar a análise estatística, as taxas de retirada das silagens foram divididas em cinco faixas, ≤ 70 , $> 70 - 140$, $> 140 - 210$, $> 210 - 280$ e > 280 kg/m²/dia (descritas como, TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente). As contagens microbianas foram transformadas em log₁₀ para obter uma distribuição normal dos dados e a análise estatística foi realizada considerando a média das amostras coletadas no topo.

Inicialmente foram calculados a média, mínimo e máximo dos dados por meio do procedimento PROC MEANS do SAS (2004). Os dados da contagem de leveduras, fungos filamentosos, pH, e ácido lático das amostras do topo de cada faixa foram comparados com os valores do centro (referência), determinando em quais faixas as silagens do topo eram semelhantes as silagens do centro. Para isso os dados foram transformados, subtraindo a média das amostras do topo pelo valor da amostra do centro em cada faixa. Quando resultado da

transformação foi igual a zero considerou-se que a silagem do topo foi igual a silagem do centro. Essa análise foi realizada pelo teste “t” de “Student”, com nível de significância de 5% por meio do procedimento PROC MEANS do SAS (2004). Para identificar a ocorrência de deterioração aeróbia nas silagens do topo, os seguintes parâmetros foram considerados: contagem de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$ (WOOLFORD, 1990), contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$ (crescimento de fungos filamentosos na silagem), $dT_{\text{ref } 40} \geq 5^{\circ}\text{C}$ (BORREANI; TABACCO, 2010) e $\text{dpH} \geq 0,25$. Cada parâmetro foi testado dentro das cinco faixas de taxa de retirada por meio do teste exato de Fisher a 5% de probabilidade utilizando o PROC FREQ do SAS (2004). A análise de componentes principais foi realizada por meio do *Software* Statistica (2009) para tentar explicar o fato de que algumas silagens mesmo com a baixa taxa de retirada ($\leq 280 \text{ kg/m}^2/\text{dia}$) não apresentaram sinais de deterioração aeróbia.

3 RESULTADOS

A caracterização das fazendas, dimensões dos silos, tempo de estocagem, densidade e o consumo de silagem estão apresentados na Tabela 1. A densidade das silagens avaliadas variou de 388 a 1.006 kg de matéria verde/m³ e o consumo de silagem por dia variou entre 250 e 62.000 kg/dia.

Table 1 - Characterization of farms, silo dimensions, silage storage time, density and silage consumption per day

Item	Mean	Minimum	Maximum	SD
Number of lactating cows	165	6	1800	224
Daily milk production (L)	4689	100	68000	8084
Mean production per animal (L/cow/day)	24,0	4,80	37,9	7,22
Silo length (m)	41,7	13,5	100,0	20,6
Silo width (m)	8,05	2,43	43,0	5,69
Silo wall height (m)	2,43	1,00	5,00	0,75
Silage height (m)	2,80	1,40	5,50	1,00
Silo face area (m ²)	25,3	3,40	168,8	24,5
Silage storage time (day)	141	22	600	104
Silage density (kg FM/m ³)	670	388	1006	133
Silage consumption per day (kg/day)	5477	250	62000	7967

SD - standard deviation; FM - fresh matter

A taxa de retirada das silagens, juntamente com a composição química, produtos finais da fermentação, pH e a contagem microbiana das amostras localizadas no centro dos silos de acordo com a taxa de retirada estão apresentados na Tabela 2. A taxa de retirada das silagens variou de 28 a 70 kg/m²/dia em TR1, de 71 a 139 kg/m²/dia em TR2, de 148 a 210 kg/m²/dia

em TR3, de 217 a 280 kg/m²/dia em TR4 e de 282 a 989 kg/m²/dia em TR5. A concentração de MS nas silagens estava entre 22,2 a 43,9%. O teor de FDN nessas silagens foi em média de 45,0 a 49,0% da MS e a concentração de amido foi em média de 29,2 a 31% da MS. A concentração de ácido láctico variou de 1,09 a 9,72% da MS. A contagem de leveduras foi em média de 2,14 log ufc/g em TR3 e < 2 log ufc/g nas demais faixas de taxa de retirada, e a contagem de fungos filamentosos foi em média < 2 log ufc/g em todas as faixas de taxa de retirada.

A composição química, produtos finais da fermentação, pH, contagem de microrganismo, dpH e o dT_{ref 40} das silagens localizadas no topo dos silos de acordo com a taxa de retirada estão apresentados na Tabela 3. A concentração de MS das silagens do topo nas diferentes faixas de taxas de retirada estava entre 16,4 a 44,4%. A concentração de cinzas foi em média de 4,63, 4,36, 4,10, 3,95 e 3,34% da MS em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente. Em média o teor de FDN variou de 44,4 a 51,4% da MS e a concentração de amido variou de 24,3 a 27,6% da MS. Em média a concentração de ácido láctico das silagens foi de 2,26 a 4,88%. A concentração máxima de ácido butírico encontrada nas silagens foi de 1,65, 1,20, 0,41, 0,17 e 0,08% da MS em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente. A contagem média (mínima e máxima) de leveduras em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5 foi de 4,66 (1,00 - 7,25), 4,47 (1,00 - 7,80), 3,81 (1,00 - 7,78), 4,35 (1,00 - 7,16) e 2,11 log ufc/g (1,00 - 4,53), respectivamente. Já a contagem de fungos filamentosos foi em média (mínimo e máximo) de 3,43 (1,00 - 6,69), 2,77 (1,00 - 6,85), 2,68 (1,00 - 6,24), 2,50 (1,00 - 7,76) e 1,04 log ufc/g (1,00 - 1,74) em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente. Em média os valores de dpH das silagens foram de 0,72, 0,54, 0,31, 0,36 e 0,02 em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente e os valores de dT_{ref 40} foram em média de 12,6, 9,56, 3,56, 5,14 e -3,07°C em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente.

A contagem microbiana, o pH e a concentração de ácido láctico das silagens localizadas no topo comparados às silagens do centro (referência) em função da taxa de retirada estão apresentados na Figura 3. De forma geral, o aumento da taxa de retirada da silagem diminuiu numericamente a contagem de leveduras e fungos filamentosos, e conseqüentemente, manteve uma maior concentração de ácido láctico e menor pH. Quando a taxa de retirada da silagem foi superior a 280 kg/m²/dia não houve diferença ($P > 0,05$) entre as silagens localizadas no topo e no centro dos silos para a contagem de leveduras e fungos filamentosos. A concentração de ácido láctico e os valores de pH das amostras do topo também não diferiram ($P > 0,05$) das amostras do centro quando a taxa de retirada da silagem foi maior que 210 kg/m²/dia.

Table 2 - Chemical composition, fermentation end products, pH and microbial counts of the silages located at the center of bunker silo according to the feed-out rate

Item	Feed-out rate (kg/m ² /day)														
	≤ 70			> 70 - 140			> 140 - 210			> 210 - 280			> 280		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Feed-out rate (kg/m ² /day)	53	28	70	102	71	139	180	148	210	246	217	280	500	282	989
DM (%)	33.7	25.9	38.9	35.0	22.2	43.3	34.7	28.5	43.9	34.0	28.8	37.1	32.8	27.5	37.4
Ash (% DM)	4.06	2.97	5.41	3.57	2.50	4.48	3.48	2.42	5.49	3.57	2.75	4.32	3.27	2.54	4.64
CP (% DM)	7.25	5.88	8.84	7.19	4.96	9.85	7.98	4.63	9.89	7.30	4.86	9.14	8.12	6.77	13.5
NDF (% DM)	45.0	33.7	56.2	46.7	36.4	66.6	47.0	34.9	57.1	47.6	39.2	59.1	49.0	37.1	60.2
Starch (% DM)	30.3	21.4	38.2	29.2	9.61	38.1	29.2	16.1	41.1	31.0	22.5	39.0	30.2	15.7	38.5
Lactic acid (% DM)	5.54	2.60	8.41	4.44	2.00	7.34	5.12	1.22	9.44	4.66	1.64	7.23	5.28	1.09	9.72
Acetic acid (% DM)	2.62	0.93	4.17	1.89	0.16	3.95	1.73	0.14	4.70	2.00	0.12	4.36	2.84	0.35	6.88
Propionic acid (% DM)	0.41	0.00	1.01	0.26	0.00	0.91	0.32	0.00	0.85	0.26	0.00	0.59	0.50	0.07	1.49
Butyric acid (% DM)	0.00	0.00	0.05	0.02	0.00	0.38	0.02	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.08
Ethanol (% DM)	0.64	0.02	1.49	0.54	0.16	2.12	0.58	0.16	2.30	0.50	0.13	1.04	0.79	0.00	2.74
1,2 Propanediol (% DM)	1.05	0.03	2.78	0.56	0.00	1.88	0.44	0.00	1.96	0.45	0.00	1.17	0.51	0.00	2.06
pH	3.77	3.53	3.99	3.80	3.50	4.04	3.77	3.45	4.04	3.78	3.52	4.15	3.87	3.61	4.11
Yeast (log cfu/g)	1.25	1.00	3.29	1.76	1.00	3.71	2.14	1.00	6.07	1.99	1.00	5.18	1.70	1.00	3.98
Molds (log cfu/g)	1.36	1.00	3.08	1.24	1.00	2.58	1.18	1.00	2.16	1.19	1.00	2.41	1.06	1.00	2.18

DM - dry matter; CP - crude protein; NDF – neutral detergent fiber.

Table 3 - Chemical composition, fermentation end products, pH, microbial counts, dpH and $dT_{ref\ 40}$ of the silages located at the top of bunker silo according to the feed-out rate

Item	Feed-out rate (kg/m ² /day)														
	≤ 70			>70 -140			> 140 -210			> 210 -280			> 280		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
DM (%)	29.8	16.4	44.4	32.4	17.8	41.3	32.5	20.7	37.7	32.0	27.1	35.6	32.9	27.2	38.3
Ash (% DM)	4.63	3.65	6.18	4.36	2.70	7.64	4.10	2.18	8.13	3.95	2.51	7.34	3.34	2.19	4.35
CP (% DM)	7.09	4.40	8.80	6.76	5.20	8.81	7.80	5.06	10.5	7.51	5.10	9.98	8.09	5.81	9.55
NDF (% DM)	44.0	36.3	57.5	47.9	35.5	65.3	49.4	37.0	58.7	50.2	43.3	60.0	51.4	41.5	63.4
Starch (% DM)	28.3	19.2	35.0	25.8	7.92	35.9	24.3	11.3	35.0	25.2	7.28	34.0	27.6	17.3	36.7
Lactic acid (% DM)	2.26	0.16	5.24	2.34	0.00	6.44	3.58	0.30	6.78	3.60	0.86	5.78	4.88	2.24	8.00
Acetic acid (% DM)	2.23	0.00	6.19	1.73	0.14	6.17	1.92	0.28	5.15	1.49	0.15	4.26	2.80	0.66	6.12
Propionic acid (% DM)	0.45	0.00	1.10	0.57	0.00	1.55	0.42	0.00	1.17	0.33	0.00	0.68	0.42	0.08	1.04
Butyric acid (% DM)	0.15	0.00	1.65	0.11	0.00	1.20	0.04	0.00	0.41	0.02	0.00	0.17	0.01	0.00	0.08
Ethanol (% DM)	0.15	0.00	1.04	0.20	0.00	1.05	0.29	0.00	0.83	0.30	0.00	1.30	0.69	0.18	2.47
1,2 Propanediol (% DM)	0.34	0.00	1.53	0.31	0.00	1.55	0.28	0.00	1.16	0.32	0.00	1.68	0.46	0.00	2.72
pH	4.48	3.68	7.26	4.34	3.64	7.54	4.08	3.80	5.43	4.15	3.76	6.48	3.89	3.64	4.07
Yeast (log cfu/g)	4.66	1.00	7.25	4.47	1.00	7.80	3.81	1.00	7.78	4.35	1.00	7.16	2.11	1.00	4.53
Molds (log cfu/g)	3.43	1.00	6.69	2.77	1.00	6.85	2.68	1.00	6.24	2.50	1.00	7.66	1.04	1.00	1.74
dpH	0.72	-0.19	3.51	0.54	-0.06	3.76	0.31	-0.12	1.67	0.36	-0.03	2.96	0.02	-0.22	0.21
$dT_{ref\ 40}$ (°C)	12.6	2.10	25.1	9.56	-8.70	29.4	3.56	-7.47	22.8	5.14	-6.40	28.0	-3.07	-11.9	2.63

DM - dry matter; CP - crude protein; NDF – neutral detergent fiber; dpH - difference between the pH sample and the reference pH collected of the core of the silage at 200 mm behind the silage working face; $dT_{ref\ 40}$ - difference between silage temperature and reference temperature of the core of the silage measured at 400 mm behind the silage working face.

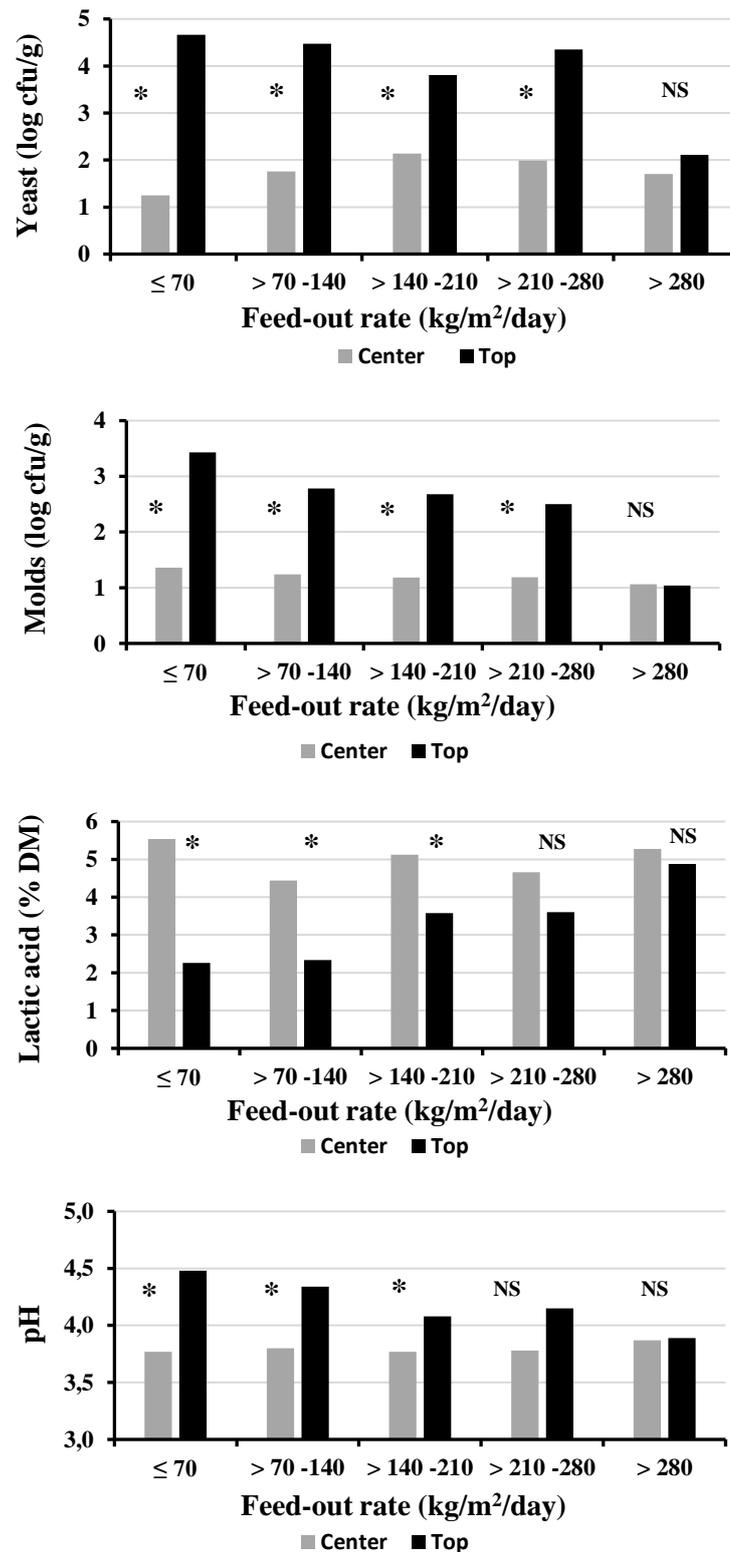


Figure 3. Microbial count, concentration of lactic acid and pH from the silages located at the top of the silo compared to the silages located at the center (reference) according to the feed-out rate. * $P \leq 0.05$; NS ($P > 0.05$).

A ocorrência de contagem de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$, contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$, $\text{dpH} \geq 0,25$ e $\text{dT}_{\text{ref}40} \geq 5 \text{ }^\circ\text{C}$ nas silagens localizadas no topo de acordo com a taxa de retirada estão apresentadas na Tabela 4. A contagem de leveduras foi $\geq 5 \log \text{ufc/g}$ em 62,5, 36,0, 30,0, 56,3 e 0,0% das silagens localizadas em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P = 0,0001$). Contagens de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$ estavam presentes em 68,7, 52,0, 35,0, 37,5 e 0,0% das silagens localizadas em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P = 0,0001$). Valores de $\text{dpH} \geq 0,25$ foram encontrados em 56,3, 36,0, 40,0, 18,7 e 0,0% das silagens localizadas em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P = 0,0007$). O $\text{dT}_{\text{ref}40}$ foi $\geq 5 \text{ }^\circ\text{C}$ em 75,0, 60,0, 40,0, 31,3 e 0,0% das silagens localizadas em TR1, TR2, TR3, TR4 e TR5, respectivamente ($P < 0,0001$).

Table 4 - Occurrence of the microbial count and values of the dpH and $\text{dT}_{\text{ref}40}$ in the silages located at the top of bunker silo according to the feed-out rate

Item	Feed-out rate (kg/m ² /day)										P Value
	≤ 70		$> 70 -140$		$> 140 -210$		$> 210 -280$		> 280		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Yeast (log cfu/g)											0.0001
< 5.00	6	37.5	16	64.0	14	70.0	7	43.7	20	100	
≥ 5.00	10	62.5	9	36.0	6	30.0	9	56.3	0	0.00	
Molds (log cfu/g)											0.0001
< 2.00	5	31.3	12	48.0	13	65.0	10	62.5	20	100	
≥ 2.00	11	68.7	13	52.0	7	35.0	6	37.5	0	0.00	
dpH											0.0007
< 0.25	7	43.7	16	64.0	12	60.0	13	81.3	20	100	
≥ 0.25	9	56.3	9	36.0	8	40.0	3	18.7	0	0.00	
$\text{dT}_{\text{ref}40}$ (°C)											< 0.0001
< 5.00	4	25.0	10	40.0	12	60.0	11	68.7	20	100	
≥ 5.00	12	75.0	15	60.0	8	40.0	5	31.3	0	0.00	

dpH - difference between the pH sample and the reference pH collected of the core of the silage at 200 mm behind the silage working face; $\text{dT}_{\text{ref}40}$ - difference between silage temperature and reference temperature of the core of the silage measured at 400 mm behind the silage working face.

A análise de componentes principais da contagem microbiana, dos valores de $\text{dT}_{\text{ref}40}$, dpH , pH e dos produtos finais da fermentação das silagens localizadas no topo do silo com taxa de retirada menor ou igual a 280 kg/m²/dia está apresentada na Figura 4. A primeira componente principal (CP1) explicou 41,10% dos dados e a segunda componente (CP2) explicou 14,39%. As variáveis (e os coeficientes de correlação com $P < 0,05$) que melhor representaram a CP1 foi a contagem de leveduras (0,76), contagem de fungos filamentosos (0,73), dpH (0,83), $\text{dT}_{\text{ref}40}$ (0,72), pH (0,80), ácido láctico (-0,70), ácido acético (-0,51), ácido propiônico (-0,45), 1,2 propanodiol (-0,35) e etanol (-0,69). A CP2 foi melhor caracterizada pelas variáveis (e os coeficientes de correlação com $P < 0,05$) $\text{dT}_{\text{ref}40}$ (-0,31), ácido láctico (0,37), ácido acético (-

0,48), ácido propiônico (-0,72), ácido butírico (-0,63) e etanol (0,34). De modo geral, foi possível observar através da CP1 a formação de dois grupos de silagens (Figura 5). Um grupo composto por silagens deterioradas, as quais, apresentaram pelo menos dois parâmetros utilizados para dectar a deterioração (contagem de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$, contagem de fungos filamentosos $\geq 2 \log \text{ufc/g}$, $dT_{\text{ref } 40} \geq 5^\circ\text{C}$ ou $\text{dpH} \geq 0,25$). O outro grupo foi composto por silagens não deterioradas, as quais foram caracterizadas por uma fermentação mais heterolática, com maiores concentrações de ácido acético e propiônico, embora, a concentração de ácido láctico não foi baixa em algumas dessas silagens.

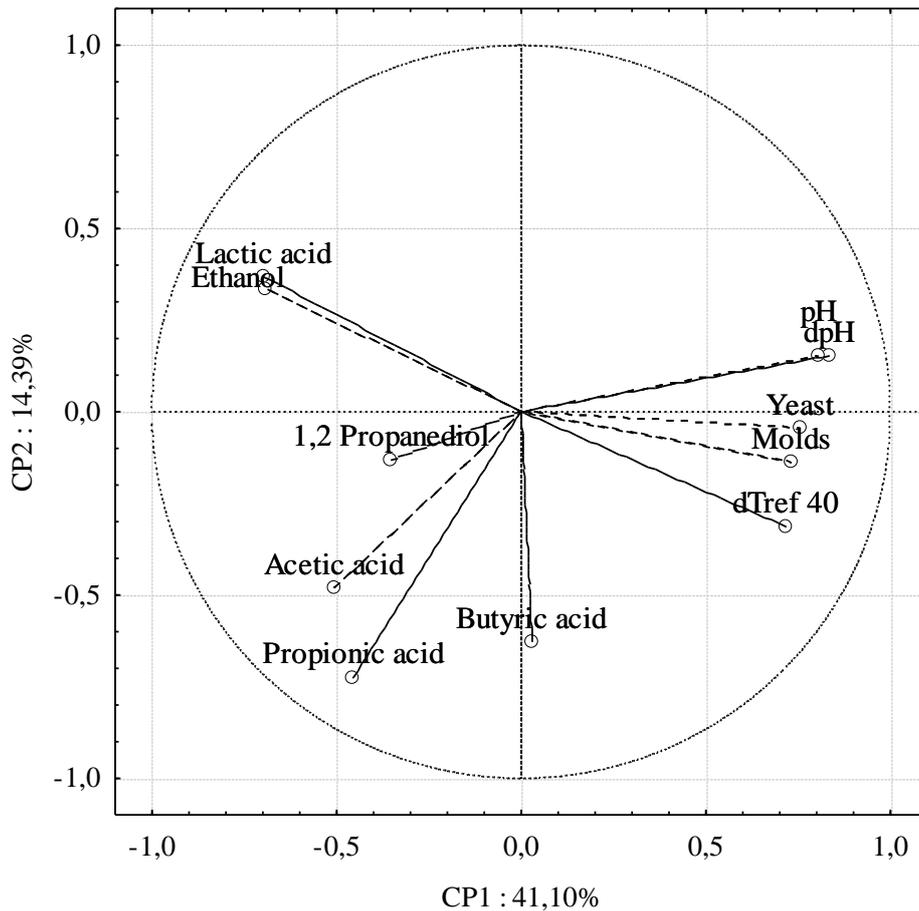


Figure 4. Principal component analysis of the microbial counts, $dT_{\text{ref } 40}$, dpH , pH and fermentation end products of the silages located at the top of the silo with feed-out rate $\leq 280 \text{ kg/m}^2/\text{day}$

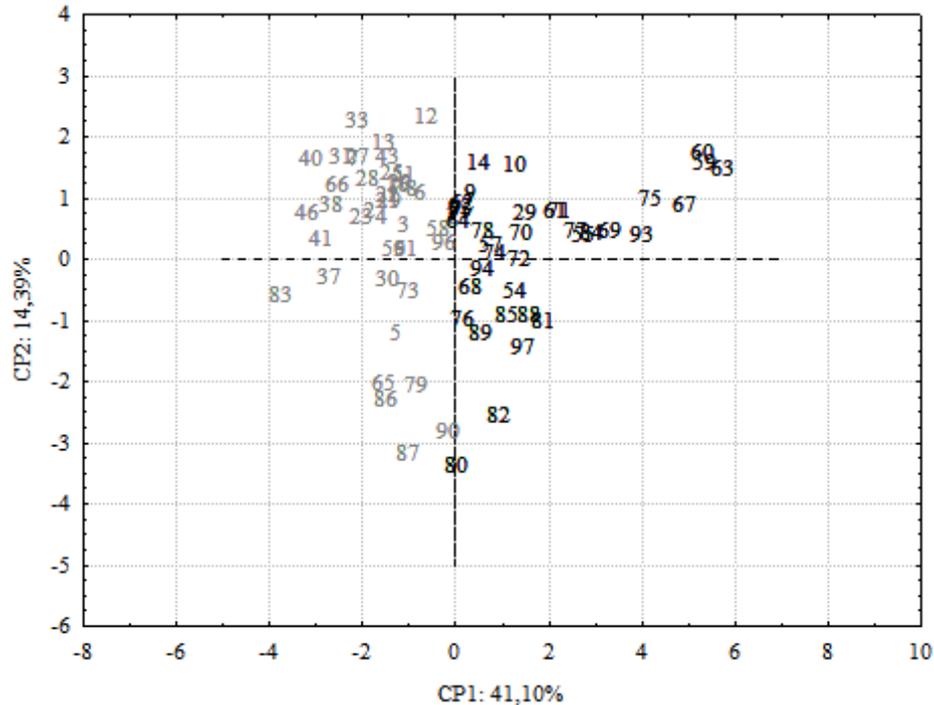


Figure 5. Projection of silage samples according to principal components analysis. ■ Non-spoiled silage ■ Spoiled silages

4 DISCUSSÃO

As perdas que ocorrem durante o desabastecimento do silo dependem principalmente da estabilidade aeróbia da silagem (perfil microbiano e os produtos finais da fermentação), da densidade da silagem e da taxa de retirada (MUCK et al. 2003). Embora a temperatura ambiente tem sido apontada como um fator que afeta a deterioração aeróbia da silagem durante a fase de desabastecimento do silo (BORREANI; TABACCO, 2012), este fato não foi observado em nosso estudo. As silagens provenientes da Itália (clima temperado) foram caracterizadas por um melhor perfil fermentativo, porém apresentaram maior contagem microrganismos deterioradores (leveduras e fungos filamentosos) comparadas às silagens brasileiras (clima tropical). Nesse caso, as condições mais quentes de ensilagem e armazenamento das silagens no Brasil, podem ter promovido um padrão de fermentação mais heterolático nas silagens (KIM; ADESOGAN, 2006; WEISS et al., 2016; ZHOU et al., 2016), o qual geralmente está associado com a melhora na estabilidade aeróbia da silagem (DRIEHUIS et al., 1999) devido às maiores concentrações de compostos antifúngicos, como o ácido acético e propiônico. Não havendo efeito da temperatura ambiente nos parâmetros que indicam a deterioração aeróbia das silagens, os dados do Brasil e da Itália foram analisados em conjunto.

A densidade e a taxa de retirada determinam juntas o quanto uma silagem é exposta ao oxigênio antes da remoção (MUCK et al., 2003). A densidade das silagens avaliadas tiveram grande variação, com valores entre 388 a 1.006 kg/m³, o que reforça a teoria de que a recomendação de taxa de retirada baseada no avanço linear pode ser falha, uma vez que ocorre grande variação na densidade das silagens entre silos.

Silos trincheira muitas vezes permitem a deterioração aeróbia da silagem (BOLSEN et al., 1993), principalmente no topo, por ser uma região de intensa troca gasosa devido à menor densidade e maior porosidade da massa comparado ao centro do silo (PITT; MUCK 1993). A importância de se ter em todo o painel do silo uma silagem uniforme e de qualidade foi recentemente afirmada por vários pesquisadores (BORREANI; TABACCO, 2010; MUCK, 2013; WILKINSON e DAVIES, 2013). Uma silagem com boa qualidade microbiológica em todo a face do silo pode ser obtida através de práticas de manejo, como o aumento da densidade por meio de uma compactação eficiente, uso de aditivos, vedação adequada e através da correta taxa de retirada da silagem durante o desabastecimento do silo (BERNARDES et al., 2018).

O processo de deterioração aeróbia das silagens geralmente é iniciado pelas leveduras que assimilam o lactato, pois alguns gêneros são ácido tolerantes e utilizam o ácido lático em seu metabolismo aeróbio (PAHLOW et al., 2003). O consumo do ácido lático e de outros açúcares residuais pelas leveduras resulta no aumento da temperatura e do pH da silagem (WOOLFORD, 1990). Nos silos em que a taxa de retirada foi menor ou igual a 280 kg/m²/dia, as silagens do topo apresentaram numericamente maior contagem de leveduras e fungos filamentosos, menor concentração de ácido lático e maior pH comparado as silagens do centro (referência). Por outro lado, nos silos em que a taxa de retirada foi superior a 280 kg/m²/dia, a contagem de leveduras e fungos filamentosos, a concentração de ácido lático e o pH das silagens localizadas no topo foram iguais as silagens do centro (referência). O que demonstra a efetividade da taxa de retirada em controlar a deterioração aeróbia, e conseqüentemente, manter as silagens com boa qualidade microbiológica em todo painel do silo.

Nos silos em que a taxa de retirada foi menor ou igual a 280 kg/m²/dia, houve maior ocorrência de contagem de leveduras $\geq 5 \log \text{ufc/g}$, contagem de fungos filamentosos $\geq 2,00 \log \text{ufc/g}$, $dT_{\text{ref}40} \geq 5^{\circ}\text{C}$ e $d\text{pH} \geq 0,25$ nas silagens. Em contrapartida, quando a taxa de retirada foi maior que 280 kg/m²/dia esses parâmetros não foram observados nas silagens. Segundo Woolford (1990), quando a contagem de leveduras aumenta para mais de 5 log ufc/g a silagem é particularmente propensa à deterioração aeróbia. No entanto, deve-se ter cuidado ao interpretar a população de leveduras e fungos filamentosos nas silagens, pois quando o processo de deterioração é muito intenso esses microrganismos podem morrer devido ao esgotamento de

substrato e, conseqüentemente, sua população na silagem pode ser baixa (KUNG et al., 2018). Além disso, especialmente em silagens de milho, o *Acetobacter sp.* pode iniciar o processo de deterioração aeróbia (SPOELSTRA; COURTIN; VAN BEERS et al., 1988), consumindo o ácido láctico da silagem, o que causa elevação da temperatura e do pH (DOLCI et al., 2011). Os valores de $dT_{ref40} \geq 5^{\circ}\text{C}$ e de $dpH \geq 0,25$ têm sido utilizados como índices para auxiliar na identificação da deterioração aeróbia em silagens de milho (BORREANI; TABACCO, 2010; VISSERS et al., 2007). Esses índices representam as variações de temperatura e pH que ocorrem durante o processo de deterioração aeróbia das silagens, e de um modo geral, estão associados com uma população de leveduras maior que $5 \log \text{ufc/g}$. No processo de deterioração aeróbia da silagem, o crescimento de fungos filamentosos (contagem $\geq 2 \log \text{ufc/g}$) tem ocorrido principalmente após ter tido aumento na temperatura e no pH da silagem e seu desenvolvimento na silagem cria condições para o crescimento de outros microrganismos (TABACCO et al., 2009).

Embora os clostrídios sejam microrganismos anaeróbios, estudos tem mostrado que eles podem estar presentes no processo de deterioração aeróbia da silagem (TABACCO et al., 2009; VISSERS et al., 2007). Alta concentração de ácido butírico foi detectada em algumas silagens do topo, principalmente, quando a taxa de retirada foi menor que $210 \text{ kg/m}^2/\text{dia}$, o que indica a atividade de clostrídios nessas silagens (PAHLOW et al., 2003). A penetração do oxigênio na silagem faz com que leveduras e as bactérias ácido acéticas iniciem seu crescimento. Inicialmente, como a população inicial desses microrganismos aeróbios ainda é baixa, o oxigênio penetra profundamente na silagem. Mas à medida que a população desses microrganismos aumenta, o consumo de oxigênio aumenta. Como resultado, o oxigênio penetra menos profundamente na silagem, e as partes mais profundas da silagem retornam a condições anaeróbicas (MUCK; PITT, 1994). Conseqüentemente, passam a existir ninchos anaeróbios na silagem e a oxidação dos ácidos preservantes pelos microrganismos aeróbios causa aumento do pH, permitindo assim o desenvolvimento dos clostrídios (JONSSON, 1989). No entanto, se a taxa de retirada da silagem não for adequada, a interface anaeróbia aeróbia da silagem dura o tempo suficiente para que os clostrídios possam crescer (BORREANI; TABACCO, 2008).

Algumas silagens mesmo com baixa taxa de retirada não apresentaram sinais de deterioração aeróbia. Resultados de campo têm mostrado que a susceptibilidade das silagens às perdas aeróbias tem ocorrido principalmente em função do perfil fermentativo e de fatores de manejo, como a densidade e a taxa de retirada, que influenciam na exposição da silagem ao oxigênio antes da sua remoção do painel do silo (KÖHLER et al., 2013; TABACCO et al., 2011). Através da análise de componentes principais das silagens com taxa de retirada menor

ou igual a 280 kg/m²/dia (Figuras 4 e 5), foi possível observar que as silagens não deterioradas foram caracterizadas por um perfil fermentativo mais heterolático, com maiores concentrações de ácido acético e ácido propiônico, acompanhados da presença de 1,2 propanodiol. Silagens com maiores concentrações de ácido acético e 1,2 propanodiol, são geralmente associadas com a presença de *Lactobacillus buchneri* (OUDE ELFERINK et al., 2001). Provavelmente, espécies epifíticas de *L. buchneri* se desenvolveram durante o processo fermentativo dessas silagens, o que resultou em uma fermentação mais heterolática, visto que, a maioria das silagens não foram inoculadas. O *Lactobacillus buchneri* sob condições anaeróbias converte o ácido láctico em ácido acético, 1,2 propanodiol e etanol (OUDE ELFERINK et al., 2001). A maior concentração de ácido propiônico nessas silagens pode estar relacionada ao 1,2 propanodiol, pois, o *Lactobacillus diolivorans* que é um microrganismo que ocorre naturalmente na silagem, pode converter o 1,2 propanodiol em ácido propiônico e 1-propanol (KROONEMAN et al., 2002). O ácido acético e propiônico possuem um efeito sinérgico que é capaz de inibir o crescimento de leveduras e fungos filamentosos nas silagens (MOON, 1993). O efeito antifúngico desses ácidos pode reduzir a população desses microrganismos deterioradores durante a fase de conservação, o que conseqüentemente, melhora a estabilidade das silagens quando elas são expostas ao oxigênio (KUNG et al., 1998; MUCK, 2004). Portanto, o perfil fermentativo mais heterolático dessas silagens, pode ter reduzido o crescimento de microrganismos deterioradores, principalmente as leveduras, atenuando os efeitos da deterioração aeróbia quando as silagens apresentaram baixa taxa de retirada.

5 CONCLUSÃO

A recomendação de taxa de retirada da silagem baseada na quantidade de silagem consumida diariamente por metro quadrado de área de painel do silo é mais adequada, pois considera a densidade da silagem, visto que existe grande variação na densidade das silagens entre silos. Removendo mais que 280 kg de silagem/m²/dia reduz o risco de deterioração aeróbia em silagens de milho, evitando que silagem deteriorada seja fornecida aos animais. Quantidades inferiores podem ser removidas, contudo, outras estratégias de manejo (aplicação de aditivos) devem ser adotadas.

6 IMPLICAÇÕES

A deterioração aeróbia durante o desabastecimento do silo está relacionada principalmente com a taxa de retirada, a densidade e com o perfil fermentativo da silagem. A taxa de retirada baseada no consumo diário de silagem e na área do painel do silo ($\text{kg}/\text{m}^2/\text{dia}$), considera o avanço linear e a densidade da silagem, os quais, determinam o quanto uma silagem é exposta ao oxigênio antes da remoção. A recomendação da taxa de retirada em $\text{kg}/\text{m}^2/\text{dia}$, é uma forma fácil para que produtores possam calcular a taxa de desabastecimento do silo levando em consideração a densidade da silagem, afim de, prevenir a deterioração aeróbia.

A temperatura ambiente tem sido apontada como um fator que afeta a deterioração aeróbia da silagem durante a fase de desabastecimento do silo. No entanto, nesse estudo podemos observar que a estabilidade aeróbia das silagens foi definida pelo perfil fermentativo e não pela temperatura ambiente. As silagens com um padrão fermentativo mais heterolático, com maiores concentrações de compostos antifúngicos, como o ácido acético e propiônico, foram mais estáveis, mesmo com uma menor taxa de retirada.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists**. 15th ed. Arlington, 1990. 1117 p.
- BERNARDES, T. F. et al. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 4001-4019, 2018.
- BOLSEN, K. K. et al. Rate and Extent of Top Spoilage Losses in Horizontal Silos. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 10, p. 2940-2962, 1993.
- BORREANI, G. et al. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 3952-3979, 2018.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. Effect of silo management factors on aerobic stability and extent of spoilage in farm maize silages. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Helsinki. **Proceedings...** Hameenlinna: MTT Agrifood Research Finland; University of Helsinki, 2012. p. 71-72.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. Improving corn silage quality in the top layer of farm bunker silos through the use of a next-generation barrier film with high impermeability to oxygen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 4, p. 2415-2426, 2014.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. Low permeability to oxygen of a new barrier film prevents outgrowth of butyric acid bacteria in farm corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 11, p. 4272– 4281, 2008.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 6, p. 2620-2629, 2010.
- D'AMOURS, L.; SAVOIE, P. Density profile of corn silage in bunker silos. In: **2005 ASAE Annual Meeting**. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2005. p. 1.
- DOLCI, P. et al. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 21, p. 7499-7507, 2011.
- DRIEHUIS, F., ELFERINK, S. J. W. H. O.; SPOELSTRA, S. F. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal Applied Microbiology**, Oxford, v. 87, n. 4, p. 583–594, 1999.
- DRIEHUIS, F. Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 16-34, 2013.
- GERLACH, K. et al. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 168-181, 2013.

- HALL, M. B.; MERTENS, D. R. Technical note: effect of sample processing procedures on measurement of starch in corn silage and corn grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 12, p. 4830-4833, 2008.
- JONSSON, A. (1989). The role of yeasts and clostridia in silage deterioration. PhD thesis, Swedish University of Agricultural Science, Report 42. Uppsala, Sweden.
- KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 8, p. 3122-3132, 2006.
- KOEHLER, B. et al. Dry matter losses of grass, lucerne and maize silages in bunker silos. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 145-150, 2013.
- KROONEMAN, J. et al. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1, 2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 52, n. 2, p. 639-646, 2002.
- KUNG, L. et al. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 5, p. 4020-4033, 2018.
- KUNG, L. et al. The Effect of Preservatives Based on Propionic Acid on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage and a Total Mixed Ration1. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1322-1330, 1998.
- LINDGREN, S.; PAHLOW, G.; OLDENBURG, E. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 19., 2002, La Rochelle. **Proceedings...** La Rochelle, 2002. p. 503-511.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. Microorganisms. In: McDONALD, P. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Aberystwyth, UK: Chalcombe Publications, 1991. p. 81-152.
- MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 55, n. 3, p. 453-460, 1983.
- MUCK, L.; MOSER, M. R.; PITT, R. E. Postharvest factors affecting ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H (Ed.). **Silage Science and technology**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p. 251-304. (Series Agronomy, 42).
- MUCK, R. E. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. **Transactions of the Asae**, St Joseph, v. 47, n. 4, p. 1011 – 1016, 2004.
- MUCK, R.E.; PITT, R.E. Aerobic deterioration in corn silage relative to the silo face. **Transactions of the Asae**, St Joseph, v. 37, n. 3, p. 735–743, 1994.

MUCK, R. E. Recent advances in silage microbiology. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 3-15, 2013.

OGUNADE, I. M. et al. Control of Escherichia coli O157: H7 in contaminated alfalfa silage: Effects of silage additives. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 6, p. 4427-4436, 2016.

OUDE ELFERINK, S. J. W. H., et al. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2-propanediol by Lactobacillus buchneri. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 1, p. 125-132, 2001.

PAHLOW, G. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p. 31-93.

PITT, R. E.; MUCK, R. E. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, London, v. 55, n. 1, p. 11-26, 1993.

SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Version 9.1 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC

SPOELSTRA, S. F.; COURTIN, M. G.; VAN BEERS, J. A. C. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 111, n. 1, p. 127-132, 1988.

STATISTICA. **A comprehensive system for statistics, graphics and application development**. Tulsa: StatSoft, 2009. Software.

TABACCO, E. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by Lactobacillus buchneri and Lactobacillus plantarum inoculants. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 107, n. 5, p. 1632-1641, 2009.

TABACCO, E. et al. Effect of Lactobacillus buchneri LN4637 and Lactobacillus buchneri LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 11, p. 5589-5598, 2011.

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

VISSERS, M. M. M. et al. Concentrations of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 2, p. 928-936, 2007.

WEISS, K.; KROSCHEWSKI, B.; AUERBACH, H. Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 10, p. 8053-8069, 2016.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 68, n. 1, p. 1-19, 2013.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 68, n. 2, p. 101-116, 1990.

ZHOU, Y.; DROUIN, P.; LAFRENIÈRE, C. Effect of temperature (5–25°C) on epiphytic lactic acid bacteria populations and fermentation of whole-plant corn silage. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 121, n. 3, p. 657-671, 2016.