# Desenvolvimento de microrganismos durante a utilização de silagens de grãos úmidos de milho e de espigas de milho sem brácteas

## Clóves Cabreira Jobim<sup>1\*</sup>, Ricardo Andrade Reis<sup>2</sup>, Ruben Pablo Schoken-Iturrino<sup>3</sup> e Beneval Rosa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil. Fone/Fax 044-226-2527 (ccjobim@cca.uem.br). <sup>2</sup>Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, FCAV/Unesp, 14870-000-Jaboticabal-São Paulo, Brazil. <sup>3</sup>Departamento de Microbiologia, FCAV/Unesp, 14870-00, Jaboticabal-São Paulo, Brazil. <sup>4</sup>Departamento de Produção Animal, Universidade Federal de Goiás, C.P. 131, 74001-970, Goiânia-Goiás, Brazil. \*Author for correspondence.

RESUMO. O experimento teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de microrganismos nas silagens de grãos úmidos e de espigas de milho sem brácteas, durante o período de descarregamento dos silos. Os tratamentos constaram de dois tipos de silagem (silagem de grãos úmidos e silagem de espigas de milho sem brácteas) e quatro períodos de amostragens após o início de descarregamento dos silos (0, 2, 4 e 6 dias), arranjados em esquema fatorial, num delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os resultados mostraram pequeno desenvolvimento de clostrídeos e dominância das bactérias ácido-láticas heterofermentativas. Observou-se, também, que a silagem de espigas de milho favoreceu o desenvolvimento de fungos, leveduras e enterobactérias, após a abertura dos silos, em relação à silagem de grãos. Com relação à formação de ácidos orgânicos, não se constataram diferenças entre as silagens avaliadas. O rápido desenvolvimento de microrganismos caracterizou a silagem de grãos úmidos e a silagem de espigas de milho como sujeitas à rápida deterioração superficial, no entanto, a alta densidade alcançada com esse material impede a deterioração nas camadas mais profundas do silo.

Palavras-chave: ácidos orgânicos, microrganismos, silagem de grãos, silagem de espigas.

ABSTRACT. Microorganism development during feed-out of high-moisture corn and corn-ears silages. The aim of this experiment was to evaluate the microorganism development in both high-moisture corn silage and corn-ears silage after the silos have been opened. The treatments consisted of two kinds of silages (high-moisture corn silage and corn-ears silage) and four periods of sampling after the opening of the silos (0, 2, 4 and 6 days), using a factorial arrangement with a completely randomized design and three replications. Both silage treatments showed little growth of clostridia development, but it was possible to observe a dominance of heterofermentative lactic-acid bacteria. It was also observed that the corn-ears silage allowed the development of molds, enterobacteriaceae, and yeast, after the opening of the silos, when compared to the high-moisture corn silage. No difference in organic acids was observed between the two silages. A large aerobic development of microorganisms was found in both high-moisture corn silage and corn-ears silage characterizing their susceptibility to superficial deterioration. However, the high density achieved during ensiling avoided losses in the deepest layers of the silos.

 $\textbf{Key words:} \ \text{organic acids, microorganisms, high-moisture corn, corn-ear silage.}$ 

Um dos principais problemas na utilização do milho na alimentação animal é o ataque de insetos, e as toxinas produzidas por diferentes espécies de fungos que podem desenvolver-se nestes grãos durante a armazenagem, podendo causar danos

irreversíveis aos animais. O desenvolvimento de fungos nos grãos é conseqüência, principalmente, do armazenamento inadequado. A armazenagem dos grãos na forma de silagem, em condições de manejo adequado, pode eliminar ou reduzir drasticamente o 672 Jobim et al.

problema. Além disso, a tecnologia da ensilagem de grãos úmidos permite um sistema de armazenagem mais simples e econômico do que o convencional, eliminando o uso de secadores e silos especializados.

Um dos problemas que interferem no valor alimentício da silagem de grãos úmidos é a suscetibilidade à deterioração aeróbia após a abertura do silo. A deterioração aeróbica da silagem está associada, principalmente, com o desenvolvimento de fungos e leveduras, que transformam os açúcares em álcool (Phillip *et al.*, 1985; Mathinson *et al.* 1989; Muck *et al.* 1991).

Durante a fermentação da forragem ensilada, a utilização dos açúcares pelas bactérias ácidos-láticas (BAL) promove pequena variação na qualidade da forragem. As perda de matéria seca e energia ocorrerá, em maior ou menor proporção, em função da atuação dos vários microrganismos que podem desenvolver-se na massa ensilada (Rotz e Muck, 1994). McDonald (1981) e Rotz e Muck (1994) destacam que no caso das BAL as perdas de energia são pequenas (0,7 a 1,7 %) enquanto as perdas de matéria seca estão relacionadas com a intensidade de atuação das BAL heterofermentativas, que podem acarretar perdas de até 24% de MS, uma vez que as BAL homofermentativas produzem somente ácido lático durante a fermentação, sem perdas de matéria seca. Destaca-se que a concentração de ácidos orgânicos, principalmente os ácidos acético e lático, influenciam significativamente a estabilidade da

As bactérias anaeróbias do gênero Clostridium têm efeito negativo sobre a qualidade da silagem se o pH não for suficientemente baixo para inibir o seu crescimento. Esses microrganismos fermentam açúcares, ácido lático e aminoácidos, produzindo ácido butírico e aminas. Esse tipo de fermentação resulta em perdas significativas de matéria seca, e os produtos da fermentação reduzem a palatabilidade, além de diminuir a estabilidade da silagem (Mahanna, 1994; Rotz e Muck, 1994). O pH no qual a atividade dos clostrídeos cessa está relacionado ao teor de matéria seca da silagem. Isto está ligado ao fato de que os clostrídeos são sensíveis ao aumento da pressão osmótica (Woolford, 1972). Segundo Muck (1988) e Mahanna (1994), os clostrídeos tornam-se menos tolerantes ao aumento da pressão osmótica com a redução do pH da massa ensilada.

A família *Enterobacteriaceae* é de grande interesse em razão de incluir um grande número de patógenos que podem atacar homens, animais e plantas (McDonald, 1981). As enterobactérias geralmente não exercem grande efeito sobre a qualidade das silagens. São bacilos gram-negativos

anaeróbios facultativos, que competem com as bactérias ácido-láticas pelos açúcares no início do processo de fermentação da massa ensilada, principalmente produzindo ácido acético (Henderson, 1993). As enterobactérias normalmente crescem extensivamente durante os primeiros dias de ensilagem, mas sua população rapidamente à medida que o meio é acidificado. No entanto, durante a deterioração aeróbia das silagens, a qual é associada com degradação de ácido lático e acético, as enterobactérias têm oportunidade adicional para reiniciar o crescimento (Ostling e Lindgren, 1995).

O efeito mais significativo dos microrganismos aeróbios na qualidade das silagens é a respiração, sendo que o substrato depende do microrganismo. As leveduras consomem somente compostos solúveis, tais como açúcares e produtos da fermentação, enquanto os fungos degradam uma ampla variedade de nutrientes, incluindo carboidratos estruturais e lignina (McDonald, 1981; Rotz e Muck, 1994). Os fungos filamentosos não são importantes em relação à fermentação da silagem, mas contribuem para as perdas na superfície do silo durante o descarregamento e em casos de vedação inadequada.

As leveduras são conhecidas como os principais agentes responsáveis pela deterioração aeróbia das silagens (Woolford, 1990; Muck e O'Kiely, 1992). As leveduras podem utilizar açúcares e também ácido lático, empreendendo competição com as bactérias ácido-láticas no início do processo fermentativo, formando principalmente etanol (1 glicose > 2 etanol + 2 CO<sub>2</sub>), que não tem valor preservativo para a silagem, com agravante de ocasionar perdas de MS e de energia (Rotz e Muck, 1994).

#### Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia da Unesp-Jaboticabal, para a avaliação microbiológica e produção de ácidos orgânicos das silagens dos grãos úmidos de milho e das espigas de milho sem brácteas. Na avaliação microbiológica, os tratamentos constaram de dois tipos de silagem (silagem de grãos e silagem de espigas de milho) e quatro períodos de amostragem após o início de descarregamento dos silos (0, 2, 4 e 6 dias), enquanto a concentração de ácidos orgânicos foi avaliada na abertura dos silos e no 3º e 6º dias após. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial (2 X 4), em delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

As silagens foram confeccionadas a partir do milho de variedade "Br 126". Na semeadura,

utilizou-se uma adubação de 250kg/ha da fórmula 4-20-20, e 100kg/ha de sulfato de amônio em cobertura. Ao atingir o ponto determinado para ensilagem, o milho foi colhido manualmente sendo parte debulhado em trilhadeira estacionária, enquanto outra parte foi mantida em espigas, sem brácteas, para a confecção das silagens de grãos e de espigas, respectivamente. Logo após a forragem foi triturada e ensilada em tonéis de plástico, numa densidade de aproximadamente 850kg/m³. Os grãos e as espigas de milho apresentaram, respectivamente, 65,7% e 61,5% de MS no momento da ensilagem.

Após 65 dias de armazenagem, os silos foram abertos e realizadas amostragens nos tempos preestabelecidos para a identificação e contagem dos principais microrganismos que se desenvolveram nas silagens. Logo após a amostragem, as silagens foram levadas ao laboratório de microbiologia e preparadas para semeadura nos respectivos meios de cultura. O preparo das amostras para análise microbiológica consistiu na colocação de 100g de silagem (MV) em 900ml de solução salina (8,5g de NaCl/litro de água destilada). Após leve agitação foram retirados 10ml do extrato para as diluições posteriores. A partir dos extratos diluídos (as diluições variaram de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup>) foram realizadas as semeaduras nos meios específicos para cada microrganismo estudado.

Na avaliação do desenvolvimento de lactobacilos, utilizou-se a metodologia de Jonsson (1991). O meio de cultura utilizado foi Lactobacilli MRS Broth (Difco), sendo que as placas foram incubadas a 30°C por três dias. Para a diferenciação das bactérias ácido-láticas (BAL) em homofermentativas e heterofermentativas, utilizou-se a metodologia proposta por McDonald et al. (1987), sendo as culturas incubadas a 30°C por três dias. A presença de clostrídeos nas silagens foi determinada segundo Tosi et al. (1982). O meio de cultura utilizado foi Reinforced Clostridial Agar (Oxoid Ltd.), e as culturas foram incubadas a 30°C por quatro dias. Na avaliação do desenvolvimento de leveduras, as amostras foram semeadas e incubadas (30°C/3 dias) em meio Malt Extract Agar (Oxoid Ltd.) acidificado com ácido lático para a obtenção de pH 4,0, segundo metodologia de Tengerdy et al. (1991). Também, para a contagem de fungos, utilizou-se o mesmo meio de cultura, temperatura e tempo de incubação. A diferenciação entre leveduras e fungos foi feita pela estrutura física das colônias. Para determinar-se o desenvolvimento de enterobactérias nas silagens, utilizou-se como meio de cultura Violet Red Bile Agar (Oxoid Ltd.), com incubação por três dias em temperatura de 35°C, segundo metodologia de

Jonsson (1991). Os teores de ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia em fase gasosa, segundo o método descrito por Wilson (1971).

Os dados obtidos foram transformados em logaritmo, submetidos à análise de variância, sendo que para comparação entre médias empregou-se o teste Tukey (P<0,01).

#### Resultados e discussão

Pela análise dos dados da Tabela 1, pode-se inferir que a presença de esporos de clostrídeos foi de 0,1 e 0,2 log UFC/g de silagens de espigas e de grãos, respectivamente, sendo considerados baixos. Os resultados observados estão de acordo com a expectativa de uma baixa contaminação por este gênero de bactérias, uma vez que as características das silagens não favorecem o seu desenvolvimento. A baixa contaminação com bactérias do gênero Clostridium pode ser creditada ao alto teor de matéria seca das silagens (silagem de grãos = 66,7% MS; silagem de espigas = 61,9% MS) e ao baixo pH observado nas silagens (pH médio de 3,5). De acordo com a literatura, os clostrídeos são sensíveis à pressão osmótica (Woolford, 1972), tendo sua atividade reduzida acentuadamente em silagens com alto teor de MS (Jaster, 1994; Mahanna, 1994).

**Tabela 1.** Desenvolvimento de clostrídeos, de lactobacilos e percentagem de L. homofermentativos e heterofermentativos nas silagens de espigas de milho e de grãos úmidos de milho, na abertura dos silos

Microrganismos	Silagem de espigas	Silagem de grãos úmidos	
Clostrídeos (log UFC/g silagem)	0,1	0,2	
Lactobacilos (log UFC/g silagem)	8,3	8,9	
L. homofermentativos*	18,0	23,0	
L. heterofermentativos*	82,0	77,0	

<sup>\*</sup>Valores em percentagem do total de lactobacilos nas silagens

A análise dos resultados referentes desenvolvimento de Lactobacillus permitem observar que houve condições para crescimento adequado dessas bactérias nas duas silagens avaliadas (Tabela 1). O número de unidades formadoras de colônias (UFC) de lactobacilos/g de silagem encontrado no presente estudo é semelhante ao registrado por Wardynsky et al. (1993), com valore entre 9,32 e 6,98 log UFC/g, em silagem de grãos úmidos de milho com 67,7% e 76,5% de MS, respectivamente. Com ao desenvolvimento de bactérias homofermentativas e heterofermentativas (Tabela 1), constatou-se ampla dominância das BAL heterofermentativas nas duas silagens avaliadas. A predominância das BAL heterofermentativas está de acordo com a literatura, segundo a qual no final do processo fermentativo há predomínio das bactérias

674 Jobim et al.

heterofermentativas em função da maior resistência destas ao pH ácido (McDonald,1981; Ruiz e Munari, 1992).

Constatou-se (Tabela 2) que o desenvolvimento de leveduras aumentou (P<0,01) após a abertura dos silos nas duas silagens estudadas. Na silagem de espigas de milho, a população de leveduras apresentou crescimento médio superior (P<0,01) à observada na silagem de grãos, com valores de 8,1 e 7,4 log UFC/g de silagem, respectivamente. Esse fato pode ser atribuído à presença do sabugo favorecendo a oxigenação da silagem em decorrência de áreas de menor compactação, pois, segundo Mahanna (1994), na confecção de silagens de espigas de milho, deve-se proceder moagem adequada para evitar o acúmulo de sabugo em determinadas áreas do silo, o que favorece o desenvolvimento de leveduras e fungos.

**Tabela 2.** Desenvolvimento de leveduras (log UFC/g silagem) nas silagens de espigas e de grãos úmidos de milho em diferentes períodos de amostragem após a abertura dos silos

Silagens	Dias	após	abertura	dos silos	Médias
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	
Silagem de espigas	7,2	8,0	8,6	8,5	8,1A
Silagem de grãos	6,4	7,1	7,9	8,2	7,4B
Médias	6,8c	7,5b	8,2a	8,3a	

Médias na linha com letra minúscula e na coluna com letra maiúscula diferentes diferem (P<0,01) pelo teste Tukey

Nesse sentido, Jobim et al. (1995) constataram que uma maior proporção de sabugo na silagem de grãos úmidos de milho favoreceu o desenvolvimento de leveduras após a abertura dos silos. Esses autores registraram populações de 9,4; 9,7; 9,8; 10,0 e 10,3 log UFC/g de silagem, respectivamente, para a silagem de grãos e silagem de grãos com 5%, 10%, 15% e 20% de sabugo. Segundo registros de Woolford (1990), há consenso em relação à importância de leveduras e fungos, como principais agentes na deterioração das silagens. Considerandose que silagens com contagem de leveduras superior a 5,0 log UFC/g de silagem são altamente suscetíveis à deterioração (Woolford, 1972; Woolford, 1990), pode-se classificar as silagens avaliadas no presente experimento como sujeitas a rápida deterioração superficial após a abertura dos silos. Tecnicamente, isso implica uma série de cuidados durante a ensilagem e descarregamento do silo, para evitar perdas não só na quantidade como também na qualidade dos grãos ensilados. Nesse sentido, podese destacar, principalmente, o aspecto do dimensionamento adequado do silo em relação à demanda diária de silagem.

Nota-se que tanto para o desenvolvimento de leveduras (Tabela 2) como para o desenvolvimento

de fungos (Tabela 3), não houve diferença (P>0,01) entre os dois últimos tempos de amostragem (4° e 6° dias). Diante disso, pode-se pressupor que não houve intensa atividade de microrganismos aeróbios em uma profundidade maior no silo que a fatia que estava sendo retirada a cada dois dias de descarga (cerca de 30cm), uma vez que os silos estavam sendo descarregados diariamente. Isso pode ser atribuído à densidade alcançada com silagens de grãos úmidos (800 - 1000kg/m³), conseqüentemente com pequena porosidade, o que dificulta a oxigenação da silagem em camadas mais profundas no silo.

**Tabela 3.** Desenvolvimento de fungos (log UFC/g silagem) nas silagens de espigas e de grãos úmidos de milho em diferentes períodos de amostragem após a abertura dos silos

Silagens	Dias	após	abertura	dos silos	Médias
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	
Silagem de espigas	1,2	2,0	3,5	3,8	2,6A
Silagem de grãos	0,6	1,4	3,2	2,7	1,9B
Médias	0,8c	1,7b	3,4a	3,3a	

Médias na linha com letra minúscula e na coluna com letra maiúscula diferentes diferem (P<0,01) pelo teste Tukey

O desenvolvimento de fungos nas silagens (Tabela 3) apresentou o mesmo comportamento verificado para as leveduras. Houve aumento (P<0,01) no crescimento de fungos com o prolongamento no período de exposição ao ar das silagens. Em média a silagem de espigas de milho apresentou maior (P<0,01) crescimento de fungos (2,6 log UFC/g silagem) que a silagem de grãos úmidos (1,9 log UFC/g silagem). Esse fato pode ser oriundo da maior oxigenação no interior do silo, devido à maior porosidade da silagem de espiga, fato já discutido anteriormente. Os resultados referentes ao desenvolvimento de fungos, encontrados neste experimento são inferiores aos registrados por Ashbel e Lisker (1988) para a silagem da planta de milho (6,5 log UFC/g de silagem) e também por Ashbell et al. (1991) no estudo da silagem da planta de milho (9,1 log UFC/g de silagem), avaliado no sexto dia de exposição ao ar.

relação desenvolvimento ao enterobactérias, pode-se verificar que não houve diferença (P>0,01) para o número de UFC/g de silagem entre as silagens de grãos úmidos e a de espigas de milho (Tabela 4). No entanto, o maior de aeração favoreceu (P < 0.01)desenvolvimento dessas bactérias. Comportamento semelhante também foi constatado por outros autores em estudos com silagens de diferentes culturas (Ostling e Lindgren, 1995). Na avaliação microbiológica da silagem de grãos úmidos de milho com crescentes proporções de sabugo, Jobim et al. (1995) também constataram número crescente de

enterobactérias com o prolongamento do período de exposição ao ar. Os autores registraram 1,3; 2,2; 3,2; e 4,2 UFC/g de silagem de grãos úmidos de milho, amostrada, respectivamente, na abertura dos silos e a 2, 4 e 6 dias de aeração. Observando também que a maior quantidade de sabugo nas silagens favoreceu o desenvolvimento de enterobactérias, populações de 1,3; 1,7; 2,4; 2,3 e 3,3 UFC/g de silagem, respectivamente, para a silagem de grãos úmidos com 0%, 5%, 10%, 15% e 20% de sabugo. Esse aspecto também pode ser observado no presente estudo, comparando-se a silagem de grãos úmidos com a de espigas de milho (Tabela 4), que apresentou maior população de enterobactérias, embora estatisticamente não-significativo.

**Tabela 4.** Desenvolvimento de enterobactérias (log UFC/g silagem) nas silagens de espigas e de grãos úmidos de milho, em diferentes períodos de amostragem após a abertura dos silos

Silagens	Dias	após	abertura	dos silos	Médias
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	
Silagem de espigas	1,0	2,3	2,7	3,5	2,4A
Silagem de grãos	1,2	1,5	2,4	2,6	1,9B
Médias	1,1c	1,9bc	2,6ab	3,1a	

Médias na linha com letra minúscula e na coluna com letra maiúscula diferentes diferem (P<0,01) pelo teste Tukey

Constatou-se (Tabela 5) que não houve diferença (P>0,01) nos teores de ácidos orgânicos entre as silagens de grãos úmidos e de espigas de milho nos períodos amostrados. A concentração de ácido lático registrada no presente experimento é inferior àquela considerada como o ideal para assegurar boa estabilidade das silagens de grãos, que é de 1 a 3 % na MS, segundo Mahanna (1994). No entanto, outros pesquisadores também têm observado concentrações semelhantes às obtidas neste estudo. DeBrabander et al. (1992) registraram 0,8% de ácido lático na MS da silagem de grãos de milho com 61,4% de MS e pH de 3,7. Também Wardynski et al. (1993) registraram 0,88% (base na MS) de ácido lático na silagem de grãos de milho com 76% de MS e pH de 4,7. Phillip e Fellner (1992) observaram uma baixa concentração de ácido lático (0,16% na MS) na silagem de espigas de milho com 73% de MS, registrando um pH de 5,56. Após 7 dias de exposição ao ar o teor de ácido lático reduziu para 0,13%. Os autores atribuem a baixa concentração do ácido à intensa atividade dos microrganismos durante a fase de estabilidade da silagem. Esse fato pode explicar também os valores de ácido lático observados no presente estudo (Tabela 5), uma vez que se detectou intensa atividade de leveduras na superfície dos silos já no primeiro dia após a abertura (Tabela 2). Outros autores registraram concentrações de ácido lático

maior que as observadas neste experimento. Destacam-se os resultados obtidos por Petit e Veira (1991), que registraram 3,1% de ácido lático na silagem de espigas de milho com 60% de MS. Também Stock *et al.* (1991) registraram concentrações de ácido lático variando entre 1,06 e 2,40 (% na MS) para a silagem de grãos úmidos de milho em várias amostragens entre 120 e 365 dias de armazenagem.

**Tabela 5.** Concentração de ácidos orgânicos das silagens de grãos úmidos e de espigas de milho após a abertura dos silos

	Silagem de espigas de milho			Silagem de grãos úmidos		
Ácidos orgânicos	Abertura dos silos	3 dias após abertura	6 dias após abertura	Abertura dos silos	3 dias após abertura	6 dias após abertura
Lático	0,76	0,77	0,82	0,78	0,76	0,81
Acético	0,12	0,14	0,13	0,12	0,12	0,13
Propiônico	0,011	0,008	0,005	0,007	0,005	0,004
Butírico	0,002	0,002	0,048	0,005	0,002	0,002

Embora com uma baixa concentração de ácidos totais neste estudo, a silagem de grãos úmidos e de espigas de milho apresentaram um pH médio de 3,5. Segundo Wardynski *et al.* (1993), que observaram a mesma situação, esse resultado pode ser atribuído à baixa capacidade-tampão apresentada pelos grãos de milho

Em relação às concentrações de ácido acético, propiônico e butírico, também não se observou diferença (P>0,01) entre as silagens avaliadas e entre os períodos de amostragens. Os valores registrados (Tabela 5) estão de acordo com os parâmetros estimados como ideal para uma boa estabilidade da silagem de grãos úmidos de milho. Segundo Mahanna (1994), a concentração de ácido acético deve ser menor que 0,1%, de ácido propiônico entre 0 e 1%, e de ácido butírico menor que 0,1% na MS, para que a silagem de grãos úmidos apresente boa estabilidade após a abertura dos silos.

Os resultados obtidos no presente experimento são semelhantes aos observados por Petit e Veira (1991), que registraram 0,2% de ácido acético e ausência de ácido propiônico e butírico, em uma silagem de espigas de milho com 60% de MS e pH de 4,47. Stock *et al.* (1991) registraram 0,43%, 0,27%, 0,43% e 0,49 % de ácido acético na silagem de grãos úmidos de milho amostradas aos 120, 195, 290 e 365 dias de armazenagem. Também DeBrabander *et al.* (1992) encontraram 0,4% de ácido acético e ausência de ácido butírico na silagem de grãos úmidos de milho. Enquanto Wardynski *et al.* (1993) observaram 0,141% de ácido acético na silagem de grãos úmidos de milho, como média de várias amostragens durante o descarregamento do silo.

Houve predomínio de bactérias ácido-láticas heterofermentativas em relação às

676 Jobim *et al*.

homofermentativas, na fase de estabilidade da silagem. As características físicas das silagens não favorecem o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*. A velocidade de crescimento de leveduras, fungos e enterobactérias na superfície das silagens caracterizou a silagem de grãos úmidos de milho e a silagem de espigas de milho sem brácteas como sujeitas à rápida deterioração superficial; no entanto, a alta densidade alcançada na ensilagem impede a deterioração nas camadas mais profundas do silo. As concentrações de ácidos orgânicos nas silagens são suficientes para promover a acidificação e a conservação da forragem ensilada.

### Referências bibliográficas

- Ashbell, G.; Lisker, N. Aerobic deterioration in maize silage stored in a bunker silo under farm conditions in a subtropical climate. *J. Sci. Food Agric.*, 45(4):307-315, 1988.
- Ashbell, G.; Weiberg, Z.G.; Azrieli, A.; Horen, B. A simple system to study the aerobic determination of silages. *Can. Agric. Engin.*, *33*(2):391-393, 1991.
- DeBrabander, D.L.; Cottyn, G.; Boucque, V. Substitution of concentrates by ensiled high-moisture maize grain in dairy cattle diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 38(1):57-67, 1992.
- Henderson, N. Silage additives. Anim. Feed Sci. Technol., 45(1):35-56, 1993.
- Jaster, E. Fermentation principles of legume, grass forage examined. *Feedstuffs.*, 12:14-16, 1994.
- Jobim, C.C.; Reis, R.A.; Schocken-Iturrino, R.; Rosa, B. Presença de microrganismos na silagem de grãos úmidos de milho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32, 1995, Brasília. Anais... Brasília: SBZ, 1995. p.90-91.
- Jonsson, A. Growth of clostridium tyrobutiricum during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. *J. Sci. Food Agric.*, *54*(4):557-568, 1991.
- Mahanna, B. Proper management assures high-quality silage, grains. *Feedstuffs*, 10:12 56, 1994.
- Mathinson, G.W.; Engstrom, D.F.; Kennelly, J.J.; Efficacy of anhydrous ammonia and sulfur dioxide as preservative for high-moisture grain and their effect on the nutritive value of barley of growing-finishing cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 69(4):1007-1020, 1989.
- McDonald, P. *The biochemistry of silage*. New York: John Wiley & Sons, 1981. 207p.
- McDonald, L.C.; McFeeters, R.F.; Daeschel, M.A.; Fleming, H.P. A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic-acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(6):1382-1384, 1987.
- Muck, R.E. Factors influencing silage quality and they implications for management. *J. Dairy Sci.*, 71(11):2992-3002, 1988.

Muck, R.E.; Pitt, R.E.; Leibensperger, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage.1. Microbial characterisitcs. *Grass Forage Sci.*, 46(3):283-290, 1991.

- Muck, R.E.; O'Kiely, P. Aerobic deterioration of lucerne (Medicago sativa) and maize (Zea mays) silages-Effects of fermentation products. *J. Sci. Food Agric.*, *59*(2):145-149, 1992.
- Ostling, C.; Lindgren,S. Influences of enterobacteria on the fermentation and aerobic stalility of grass silages. *Grass Forage Sci.*, 50(1):41-47, 1995
- Petit, H.V.; Veira, D.M. Effect of grain level and protein source on ruminal fermentation degradability, and digestion in milking cows fed silage. J. Dairy Sci., 74(7):2256-2267, 1991.
- Phillip, L.E.; Garino, H.J.; Alli, I.; Baker, B.E. Effects of anhidrous ammonia an amino acid preservation and feeding value of high-moisture ear corn for growing steers. Can. J. Anim. Sci., 65(2):411-417, 1985.
- Phillip, L.E.; Fellner, V. Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. *J. Anim. Sci.*, 70(10):3178-3187, 1992.
- Rotz, C.A.; Muck, R.E. Changes in forages quality during harvest and storage. In: National Conference on Forage Quality, Evaluation, and Utilization Held at The University of Nebraska, 1994, Lincoln, p.828 - 868, 1994.
- Ruiz, R.L.; Munari, D.P. Microbiologia da silagem. In: Ruiz, R.L. Microbiologia zootecnica. São Paulo: Roca, 1992. p.97-122.
- Stock, R.A.; Sindt, M.H.; Cleale, R.M.; Britton, B. Highmoisture corn utilization in finishing cattle. *J. Anim. Sci.*, 69(4):1645 1656, 1991.
- Tengerdy, R.P.; Weinberg, Z.G.; Szakacs, G.; Linden, C.J.; Henk, L.L. Ensiling alfafa with additives of lactic-acid bacteria and enzymes. *J. Sci. Food Agric.*, 55(2)215-228, 1991.
- Tosi, H.; Schocken-Iturrino, R.P.; Ravazi, J.P. Presença de clostridium em silagem de milho colhido em diferentes estádios de desenvolvimento. *Pesq. Agropec. Brasil.*, 17(8):1133-1136, 1982.
- Wardynski, F.A.; Rust, S.R.; Yokoyama, M.T. Effect of microbial inoculation of high-moisture corn on fermentation characteristics, aerobic stability, and cattle performance J. Anim. Sci., 71(8):2246-2252, 1993.
- Wilson, R.K. A rapid accurate method for measuring volatile fatty acids and lactic acid in silage. *Anim. Res. Instit.*, 1:1-12, 1971.
- Woolford, M.K. Some aspects of the microbiology and biochemistry of silage making. *Herbage Abstr.*, 42(2):105-111, 1972.
- Woolford, M.K. A Review. The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.*, 68(1):101-116, 1990.

Received on May 21, 1999. Accepted on August 20, 1999.