

Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático

Agda Luzia de Godoy Gimenes¹, Ivone Yurika Mizubuti^{2*}, Fernanda Barros Moreira², Elzânia Sales Pereira¹, Edson Luis de Azambuja Ribeiro² e Rinaldo Masato Mori¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina (UEL). ²Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Londrina. Autor para correspondência. e-mail: mizubuti@uel.br

RESUMO. Este trabalho avaliou o efeito de inoculantes bacterianos e/ou enzimáticos na composição química e na estabilidade aeróbia da silagem de milho confeccionada em mini-silos. Os tratamentos foram: SC (silagem controle), SIB (silagem com inoculante bacteriano), SIBE (silagem com inoculante bacteriano e enzimático) e SIE (silagem com inoculante enzimático). A adição de inoculante não alterou os teores de matéria orgânica (87,43%), proteína bruta (7,99%), fibra em detergente neutro (55,43%) e fibra em detergente ácido (27,67%). Os tratamentos SIE e SC apresentaram, na abertura, o menor (3,28) e maior (3,42) pH, e, após o período de exposição ao ar, o menor (3,87) e maior (6,64) pH, respectivamente. O uso de inoculantes não influenciou os teores de N-amoniaco das silagens. Os tratamentos com inoculantes apresentaram menor pico de temperatura, maior tempo para atingir o pico de temperatura e maior estabilidade aeróbia.

Palavras-chaves: conservação, deterioração, matéria seca, N-amoniaco, pH, temperatura.

ABSTRACT. Chemical composition and aerobic stability of corn silages made with bacterial and/or enzymatic inoculants. This work evaluated the effect of bacterial and/or enzymatic inoculants on chemical composition and aerobic stability in corn silage, made in mini-silos. The treatments were: CS (control silage), SBI (silage with bacterial inoculant), SBEI (silage with bacterial and enzymatic inoculant) and SEI (silage with enzymatic inoculant). The use of inoculants did not affect the organic matter (87,43%), crude protein (7,99%), neutral detergent fiber (55,43%) and acid detergent fiber (27,67%) contents. The SEI and CS treatments showed the lowest (3,28) and the highest (3,42) pH values in the beginning and after an air exposure period, showed again the lowest (3,87) and the highest (6,64) pH values, respectively. The inoculants used did not affect N-ammoniacal contents of the silages. The treatments with inoculants presented the lowest temperature peak, more time to reach this temperature and the highest aerobics stability.

Key words: conservation, deterioration, dry matter, N-ammoniacal, pH, temperature.

Introdução

Manter o ambiente em anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento, bem como a estabilidade aeróbia durante a fase de fornecimento no cocho, são fatores importantes para a preservação do valor nutritivo do material ensilado.

A deterioração da silagem quando exposta ao ar é inevitável e pode resultar em perda substancial de matéria seca (Woolford, 1990), o que geralmente ocorre pela interação de atividades fúngicas e bacterianas (Taylor *et al.*, 2002). O pH tende a aumentar, ocorre acúmulo de amônia e o nível de ácidos orgânicos (lático e acético) tende a declinar (Kung e Ranjit, 2001).

A deterioração aeróbia da silagem está relacionada com o aumento da temperatura e do pH

devido ao metabolismo de açúcares e ácidos orgânicos causado por leveduras e bactérias (Spoelstra *et al.*, 1988), reduzindo a qualidade do material ensilado. Usualmente, decresce a concentração de ácido lático e carboidratos não estruturais, pois são usados como substrato pelos microrganismos aeróbios (Kung, 2001).

Os cuidados com a estabilidade aeróbia da silagem são especialmente importantes no período do verão devido à ação da temperatura ambiente sobre a estabilidade do material. Maior intensidade de deterioração acontece em temperatura ambiente de 30°C, que favorece a proliferação de fungos, maior produção de CO₂ e maior aumento do pH (Ashbell *et al.*, 2002).

Vários pesquisadores têm estudado o efeito dos

inoculantes bacterianos sobre a estabilidade aeróbia de silagens. Os resultados obtidos quando da utilização de inoculantes bacterianos à base de bactérias produtoras de ácido láctico, *Lactobacillus buchneri* e outros, foram variados. Encontraram-se resultados positivos (Taylor et al., 2002), nenhum resultado significativo (Guim et al., 2002) e resultados negativos (Weinberg e Muck, 1996) sobre a estabilidade aeróbia das silagens quando da abertura do silo.

Os diferentes resultados encontrados na literatura indicam a necessidade de mais estudos, pois em muitas fazendas as silagens passam por vários graus de deterioração aeróbia antes e durante o fornecimento no cocho. O fornecimento de silagem deteriorada pode resultar em redução da ingestão e performance do animal (Hoffman e Ocker, 1997), além da produção de micotoxinas que são responsáveis por diversas doenças e vários efeitos tóxicos aos animais.

Portanto, supõe-se que o uso de inoculantes no momento da ensilagem melhore a fermentação do material ensilado, mantendo suas características nutricionais e aumentando sua estabilidade aeróbia durante o fornecimento no cocho. Isto justificaria sua aplicação como uma alternativa para a preservação do material quando exposto ao ar, conferindo vantagens aos produtores.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos inoculantes bacterianos e/ou enzimáticos sobre a composição química e a estabilidade aeróbia da silagem de milho.

Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, Estado do Paraná.

O plantio do milho para confecção das silagens utilizadas no experimento foi realizado na Fazenda Tangará, no município de Londrina, Norte do Paraná. Foi feito plantio direto do híbrido DAS 8420 (Dow Agrosiences), classificado como simples precoce e de porte baixo, utilizando 330 kg de adubo 8-28-16/ha, seguido de adubação nitrogenada aos 25 dias de emergência, com 124 kg de uréia/ha, em aplicação única.

A confecção da silagem foi realizada quando os grãos atingiram o estágio farináceo (grãos no estágio de maturação com $\frac{2}{3}$ de linha do leite), conforme recomendações de Bal et al. (1997). O material para a confecção da silagem foi colhido da região central da lavoura. No laboratório, o material foi picado com tamanho médio de partículas de 1,2 cm.

O material picado foi separado sobre uma lona plástica e os inoculantes foram aplicados por meio de

borrifador manual utilizando água não clorada. Utilizou-se uma lona e um borrifador para cada tratamento. Os inoculantes foram dosados de acordo com as recomendações de cada fabricante e misturados manualmente ao material a ser ensilado.

Os tratamentos utilizados foram: SC, silagem controle (sem uso de inoculante); SIB, silagem com inoculante bacteriano (Biomax®: *Lactobacillus plantarum*- cepas PA-28 e K-270 - CHR Hansen), possuindo $1,0 \times 10^5$ unidades formadoras de colônia/g forragem; SIBE, silagem com inoculante bacteriano e enzimático (Lacto Silo®: *Lactobacillus curvatus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus spp.* (*Enterococcus faecium* e Bactéria láctica sorgo S1) e enzimas celulolíticas - Nital Urbana), possuindo $1,0 \times 10^9$ unidades formadoras de colônia/g forragem; e SIE, silagem com inoculante enzimático (Lacto Silo Complexo enzimático Nital Urbana). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento.

Os materiais, previamente pesados, foram armazenados em baldes de polietileno de 16,5 cm de diâmetro x 19 cm de altura, com capacidade para $0,419 \text{ cm}^3$. Em seguida foram imediatamente lacrados, constituindo os mini-silos experimentais e armazenados em sala com temperatura ambiente ($28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$). Para confecção da silagem usou-se compactação de $205,07 \text{ kg MS/m}^3$.

Os mini-silos foram abertos com 74 dias. A estabilidade aeróbia foi determinada, desprezando-se a camada superficial e misturando-se o conteúdo ensilado de cada tratamento em recipiente plástico que permitiu boa homogeneização e descompactação do material, o que favoreceu a penetração de ar.

Para estudar a estabilidade aeróbia, as amostras de cada tratamento ($1,5 \text{ kg} \pm 0,005 \text{ kg}$) foram devolvidas aos silos originais, respeitando o mesmo número de repetições. As amostras das silagens foram expostas ao ar em temperatura ambiente controlada ($25^\circ\text{C} \pm 1,3^\circ\text{C}$), semelhante às avaliações realizadas por Johnson et al. (2002). O controle da temperatura ambiente foi feito com termômetro de ambiente de máxima e mínima e a temperatura da silagem com termômetro digital com leitura de temperatura de $-30,0$ a $+180^\circ\text{C}$ (GULterm 180 - Gultron do Brasil Ltda.), colocando a ponta de inox no centro do material. A temperatura do material foi aferida a cada 3 horas durante 72 horas de exposição ao ar, totalizando 400 observações. A estabilidade aeróbia foi definida pelo número de horas em que a silagem se manteve estável antes de atingir 2°C acima da temperatura ambiente, de acordo com a técnica usada por Taylor et al. (2002).

Na abertura dos silos, considerado tempo zero, uma amostra de cada balde experimental foi usada para avaliação do pH, de acordo com a técnica de

Silva e Queiróz (2002) e do nitrogênio amoniacal conforme a técnica de Tosi *et al.* (1973). Uma parte da amostra foi separada e colocada em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por um período de 72 horas. Retirados da estufa e após equilíbrio com a temperatura ambiente, foram pesadas e trituradas em moinho dotado de peneira com crivo de dois milímetros. Foram determinados os teores de matéria seca (MS), cinzas (CIN) e proteína bruta segundo as metodologias descritas por *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1990a, b), e teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em conformidade com Goering e Van Soest (1970).

Os resultados obtidos com a composição das silagens nos diferentes tratamentos, as temperaturas das silagens e a estabilidade aeróbia foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O pH e o N-amoniacal foram submetidos ao teste de t, ambos utilizando o programa SAS (2001). O comportamento da temperatura nos diferentes tempos dentro de cada tratamento foi avaliado por meio da análise de regressão.

Resultados e discussão

Na avaliação da composição bromatológica das silagens, observou-se que a adição dos inoculantes proporcionou menor teor de matéria seca nas silagens ($p < 0,05$). No entanto, não houve influência dos inoculantes sobre a composição de matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das silagens (Tabela 1).

A silagem controle apresentou maior teor de matéria seca (30,9%), seguida pela silagem com inoculante bacteriano e enzimático (30,73%), silagem com inoculante bacteriano (30,61%) e silagem com inoculante enzimático (30,6%) de forma que os dois últimos tratamentos não diferiram entre si. Tal efeito também foi observado no trabalho de Rodrigues *et al.* (2002), os quais determinaram maior teor de matéria seca para a silagem controle em relação à silagem com o uso de inoculantes bacterianos e enzimáticos. Kung *et al.* (1993) e Stokes e Chen (1994) também encontraram resultados semelhantes trabalhando com inoculantes bacterianos e enzimáticos, respectivamente. Os últimos autores ressaltaram que, embora as diferenças fossem pequenas, estas foram significativas ($p < 0,05$), como as encontradas neste trabalho. Outro ponto a considerar é a necessidade de diluição do inoculante em água para aspersão das silagens conforme descrito no material e métodos. Essa diluição poderia ter colaborado com a diminuição no teor de matéria seca das silagens

inoculadas.

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das silagens.

Table 1. Dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) content of the silages.

Componentes (%) Components	Tratamentos Treatments					
	SC ²	SIB ³	SIBE ⁴	SIE ⁵	CV ⁶ (%)	Prob.
MS	30,90a	30,61c	30,73b	30,60c	0,08	0,0007
DM)						
MO ¹	87,32	86,79	88,06	87,56	0,48	NS
OM						
PB ¹	7,98	7,83	8,11	8,03	2,61	NS
CP						
FDN ¹	59,16	57,85	54,53	50,18	10,59	NS
NDF						
FDA ¹	32,77	28,19	24,54	25,19	11,06	NS
ADF						

¹Resultados expressos em % na MS; ²silagem controle; ³silagem com inoculante bacteriano; ⁴silagem com inoculante bacteriano e enzimático; ⁵silagem com inoculante enzimático; ⁶Coefficiente de variação; Letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹Results expressed in % in DM; ²control silage; ³silage with bacterial inoculant; ⁴silage with bacterial and enzymatic inoculant; ⁵silage with enzymatic inoculant; ⁶Coefficient of variation; Different letters in the same line are different ($P < 0,05$) by Tukey test.

Os teores médios obtidos para a MO, PB, FDN e FDA das diferentes silagens avaliadas foram de 87,43%, 7,99%, 55,43% e 27,67%, respectivamente. Quanto à ausência de efeito dos inoculantes sobre os teores de MO, PB, FDN e FDA, resultados semelhantes foram obtidos por Kung *et al.* (1993), os quais também não encontraram diferença nesses teores quando da utilização de inoculantes bacterianos em silagens de milho.

Em relação aos valores de pH das silagens no início do período de exposição ao ar, verificou-se que houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2). A silagem controle apresentou maior valor de pH (3,42), enquanto que a silagem com inoculante enzimático apresentou menor valor (3,28). As silagens com inoculantes bacteriano ou bacteriano e enzimático apresentaram valores intermediários (3,32 e 3,30, respectivamente). Entretanto, os resultados diferiram dos de Stokes e Chen (1994), os quais não encontraram efeitos de inoculantes enzimáticos sobre o pH das silagens de milho.

Independentemente do tipo de tratamento utilizado, todas as silagens avaliadas foram bem preservadas, pois apresentaram pH abaixo de 4,2, demonstrando boa qualidade de fermentação para silagem de milho (Kung e Stokes, 2002).

Considerando o valor de pH das silagens após o período de exposição ao ar, constatou-se que houve diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$), sendo que o maior valor obtido foi para a silagem controle (6,64), seguida pela silagem com inoculante bacteriano (5,16), inoculante bacteriano e enzimático (4,30) e enzimático (3,87).

Tabela 2. Valores de pH da silagem de milho dos diferentes tratamentos no início e término do período de 72 horas de exposição ao ar.

Table 2. pH Values of corn silage of the different treatments in the beginning and end of the 72 hours period of air exhibition.

Tratamento (Treatment)	pH	
	Início Beginning	Término End
SC ¹	3,42Ba	6,64Aa
SIB ²	3,32Bb	5,16Ab
SIBE ³	3,30Bbc	4,30Ac
SIE ⁴	3,28Bc	3,87Ad

¹silagem controle; ²silagem com inoculante bacteriano; ³silagem com inoculante bacteriano e enzimático; ⁴silagem com inoculante enzimático. Médias com letras maiúsculas na linha (efeito de período de exposição) e minúsculas na coluna (efeito de tratamento), diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹control silage; ²silage with bacterial inoculant; ³silage with bacterial and enzymatic inoculant; ⁴silage with enzymatic inoculant. Averages with capital letters in the same line (effect of exhibition period) and lower letters in the column (treatment effect) are different to each other by Tukey test ($p < 0,05$).

Comparando-se o valor de pH das silagens antes e após o período de 72 horas de exposição ao ar, observou-se o aumento ($p < 0,05$) no pH das silagens de todos os tratamentos. No entanto, o tratamento SIE apresentou menor variação de pH, seguido, respectivamente, pelos tratamentos SIBE, SIB e SC, sendo que este último apresentou a maior diferença de pH entre o início e término do período de exposição ao ar (Tabela 2).

Kung e Stokes (2002) afirmaram que a variação do pH durante o período de exposição ao ar pode ser um indicativo prático de que a silagem está sendo deteriorada devido ao contato com o ar, o que demonstra maior susceptibilidade à deterioração de silagens de milho quando não se faz a utilização de inoculantes bacterianos ou enzimáticos. Assim, a presença do inoculante enzimático (SIE) favoreceu uma maior conservação da silagem após a exposição ao ar, de forma que após 72 horas de exposição ao ar o pH foi de 3,87, sendo esse valor considerado satisfatório para a conservação do material ensilado (Kung e Stokes, 2002).

Por outro lado, a silagem sem adição do inoculante, após o período de 72 horas, apresentava pH de 6,64, indicando a deterioração dessa silagem.

Não houve efeito dos tratamentos e do período de exposição ao ar sobre os teores de N-amoniaco das silagens de milho em que foi obtido o valor médio de 8,72% (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de N-amoniaco da silagem de milho dos diferentes tratamentos no início e término do período de 72 horas de exposição ao ar.

Table 3. N-amoniaco values of corn silage of the different treatments in the beginning and end of the 72 hours period of air exhibition.

Tratamento Treatments	N-amoniaco ¹	
	Início Beginning	Término End
SC ²	8,77	7,73
SIB ³	10,12	9,34
SIBE ⁴	8,67	8,26
SIE ⁵	8,80	8,11

¹Porcentagem em relação à porcentagem do N-total; ²silagem controle; ³silagem com inoculante bacteriano; ⁴silagem com inoculante bacteriano e enzimático; ⁵silagem com inoculante enzimático; Médias não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

¹percentage in relation to the percentage of the Total-N; ²control silage; ³silage with bacterial inoculant; ⁴silage with bacterial and enzymatic inoculant; ⁵silage with enzymatic inoculant; Averages don't differ to each other for the Tukey test ($p > 0,05$).

Kung e Stokes (2002) indicaram valores entre 5%

a 7% de N-amoniaco como ideais para a silagem de milho. Os resultados foram similares ao de Moraes e Boin (1996), que encontraram valores de 11,76% e 11,65% para silagem de milho inoculada e não inoculada, respectivamente, não observando diferenças entre tratamentos na abertura dos silos.

Higginbotham et al. (1998) não observaram efeitos significativos com o uso de inoculantes bacterianos em relação ao tempo de ensilagem. No entanto, verificaram um aumento na concentração de N-amoniaco entre 3 e 90 dias, com valores variando de 6,7 a 8,9 nesse último tempo, concluindo que esse aumento apontou a ocorrência de solubilização e deaminação da proteína durante a fase de fermentação e armazenamento.

Durante o período de exposição ao ar, os resultados foram semelhantes aos relatados por Guim et al. (2002), que também não encontraram diferenças entre silagens de capim elefante com ou sem inoculantes bacterianos (com 6 dias de exposição). A diferença foi encontrada após 6 dias com maior teor de N-amoniaco para a silagem com inoculante e esta diferença tendeu a persistir com oito dias de exposição.

Considerando o efeito dos inoculantes sobre a temperatura do material ensilado, observou-se que os tratamentos SIBE e SIE apresentaram menores ($p < 0,05$) picos de temperatura (média de 34,5°C), sendo necessário maior tempo ($p < 0,05$) para alcançar tal pico de temperatura (média de 62 h). A silagem controle apresentou maior pico de temperatura em menor tempo, enquanto que o tratamento SIB apresentou valores intermediários (Tabela 4).

Verificou-se que a SC, durante o período de observação, mostrou um segundo aumento de temperatura. Esse resultado confirma o fato de que embora o aumento inicial da temperatura seja causado pelo crescimento de leveduras e bactérias, após algum tempo outros microrganismos passam a contribuir para a deterioração do material. Nestes, os bacilos, que não são importantes até o pH da silagem estar acima de 5, causam o segundo aumento de temperatura do material quando este é exposto ao ar (Muck e Pitt, 1992).

Tabela 4. Efeito dos inoculantes sobre a temperatura das silagens de milho nos diferentes tratamentos quando expostas ao ar.

Table 4. Effect of the inoculants on the corn silages temperature in the different treatments when exposed to the air.

Variáveis Variables	Tratamentos Treatments				CV ⁵
	SC ¹	SIB ²	SIBE ³	SIE ⁴	
Pico de temperatura (°C) Temperature pick, °C	42a	38ab	36b	33b	6,96
Tempo para alcançar o pico de temperatura (h) Time to reach the temperature pick, h	34b	49ab	61a	63a	20,39
Estabilidade aeróbia ⁶ (h) Aerobic stability ⁶ (h)	25b	33ab	41ab	50a	24,37

¹silagem controle; ²silagem com inoculante bacteriano; ³silagem com inoculante bacteriano e enzimático; ⁴silagem com inoculante enzimático; ⁵coeficiente de variação;

⁶número de horas em que a silagem se mantém estável antes de atingir mais que 2° C acima da temperatura ambiente. Letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

¹control silage; ²silage with bacterial inoculant; ³silage with bacterial and enzymatic inoculant; ⁴silage with enzymatic inoculant; ⁵coefficient of variation; ⁶ number of hours in that the silage stays stable before reaching more than 2°C above the environment temperature. Different letters in the same line differ by Tukey test (p <0.05).

O aumento da temperatura do material ensilado está relacionado com a proliferação de microrganismos indesejáveis, causando a deterioração do material (Kung e Stokes, 2002). Por isso, pode-se assegurar que os tratamentos SIBE e SIE conservaram melhor o material após a exposição ao ar, uma vez que, além de o material apresentar menor pico de temperatura, também demorou mais tempo para que esse pico fosse atingido.

Da mesma forma, as silagens tratadas com inoculantes apresentaram maior estabilidade aeróbia (p<0,05), sendo a melhor estabilidade obtida com o tratamento SIE (Tabela 4).

Os resultados divergem dos de Rodrigues *et al.* (2002), os quais, trabalhando com três inoculantes comerciais, não encontraram diferenças quanto ao uso de inoculantes bacterianos e enzimáticos sobre a temperatura e o tempo necessário para alcançar a temperatura máxima. Entretanto, os mesmos autores observaram que um dos inoculantes contendo somente bactérias homofermentativas diminuiu o tempo para alcançar a máxima temperatura em relação ao grupo controle, embora nenhum efeito tenha sido observado sobre a temperatura máxima alcançada e a estabilidade do material.

Os resultados dos tratamentos com uso de inoculantes diferiram dos de Rust *et al.* (1989), os quais relataram que o uso de inoculantes com bactérias homofermentativas resultou em silagens menos estáveis à deterioração aeróbia quando da abertura do silo. Por outro lado, os resultados foram similares aos de Higginbotham *et al.* (1998), embora estes autores tenham encontrado somente uma tendência à maior estabilidade aeróbia em duas avaliações realizadas com 21 e 90 dias de ensilagem usando inoculantes bacterianos em silagem de milho, mas sem uso de enzimas.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que mais pesquisas são necessárias para a formulação de novos produtos comerciais, tais como especificidade da forragem a ser ensilada; inclusão de enzimas e bactérias heterofermentativas para inibir o crescimento de leveduras e fungos durante a exposição aeróbia; seleção de bactérias capazes de inibir outras espécies de microrganismos, visando ao aumento da estabilidade aeróbia e preservando as características da forragem ensilada para o sucesso de sua aplicação. A utilização deve ser acompanhada de adequado manejo da silagem, desde o processo de confecção até o fornecimento no cocho.

Conclusão

O uso de inoculantes melhorou a estabilidade aeróbia, sendo que as silagens tratadas com o inoculante enzimático foram as que apresentaram maior estabilidade quando expostas ao ar.

Referências

- ASHBELL, G. *et al.* The effect of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silage. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, New York, v. 28, p. 261-263, 2002.
- AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis*. 6. ed. Arlington: Virgínia: Keneth Helrich, 1990a, v. 1, p. 684.
- AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis*. 6. ed. Arlington: Virgínia: Keneth Helrich, 1990b, v. 2, p. 685-1298.
- GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. *Forage Fiber Analyses: Apparatus, reagents, procedures and some applications*. Washington, D.C.: USDA/Agricultural Research Service. p. 19, 1970.
- GUIM, A. *et al.* Estabilidade aeróbia de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) emurcheado e tratado com inoculante microbiano. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2176-2185, 2002.
- HIGGINBOTHAM, G.E. *et al.* Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 81, p. 2185-2192, 1998.
- HOFFMAN, P.C.; OCKER, S.M. Quantification of milk yield losses associated with feeding aerobically unstable high moisture corn. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 80, supl. 1, p. 234, 1997.
- JOHNSON, L.M. *et al.* Corn silage management: effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 85, p. 434-444, 2002.
- KUNG JR., L. Silage fermentation and additives. In: SCIENCE AND TECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY. *Proc... Alltech's 17 th Annual Symposium*. Ed. T.P. Lyons and K.A. Jacques. 2001.
- KUNG JR., L. *et al.* Effect of microbial inoculant on the nutritive value of corn silage for lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 76, p. 3763-3770, 1993.
- KUNG JR., L.; STOKES, M.R. *Analyzing silages for fermentation end products*. Disponível em: <http://ag.udel.edu/departments/anfs/faculty/kung/.../analyzing_silages_for_fermentati.ht> Acesso em: 24 dez. 2002.
- MORAIS, J.P.G.; BOIN, C. *Avaliação de aditivo microbiano quanto à recuperação da matéria seca e no perfil da fermentação da silagem de milho*. 1996. Disponível em: <http://www.sbz.org.br/eventos/Fortaleza/Nut_rumi/sbz579.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2003.
- MUCK, R.E.; PITT, R.E. Aerobic losses at the silo face. *Am. Soc. Agric. Eng.*, St. Joseph, n. 92, p. 1003.1992.
- RODRIGUES, P.H.M. *et al.* Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de sorgo produzida em silos experimentais. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2373-2379, 2002.

- RUST, S.R. *et al.* Effect of a microbial inoculant on the fermentation characteristics and nutritional value of corn silage. *J. Prod. Agric.*, Madison, v. 2, p. 235-241, 1989.
- SAS. *SAS User's Guide: Statistics*. S.A.S. INSTITUTE, Inc., Cary: NC, 2001.
- SILVA, D.J.; QUEIRÓZ, A.C. *Análise de alimentos - Métodos químicos e biológicos*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2002.
- SPOELSTRA, S.F. *et al.* Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v. 111, p. 127-132, 1988.
- STOKES, M.R.; CHEN, J. Effect of an enzyme-inoculant mixture on the course of fermentation of corn silage. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 77, p. 3401-3409, 1994.
- TAYLOR, C.C. *et al.* The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 85, p. 1793-1800, 2002.
- TOSI, H. *et al.* Determinação de bases voláteis em silagem. Congresso Brasileiro de Forragens. In: W REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1973, Juiz de Fora, *Anais...* Juiz de Fora: SBZ, p. 58-59. 1973.
- WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E. New trend and opportunities in the development and use of inoculant for silage. *Fems Microbiol. Rev.*, Amsterdam, v. 19, n. 1, p. 53-68, 1996.
- WOOLFORD, M.K. The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.*, London, v. 68, p. 101-116, 1990.

Received on October 24, 2004.

Accepted on March 16, 2006.