

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RASIEL RESTELATTO

PERFIL FERMENTATIVO, COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA E PERDAS
NA SILAGEM DE RAÇÃO EM MISTURA TOTAL

CURITIBA

2018

RASIEL RESTELATTO

PERFIL FERMENTATIVO, COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA E PERDAS
NA SILAGEM DE RAÇÃO EM MISTURA TOTAL

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Zootecnia na área de concentração em Nutrição e Produção Animal do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof^o. Dr^o. Patrick Schmidt

CURITIBA

2018

R436p Restelatto, Rasiel
Perfil fermentativo, composição químico-bromatológica e
perdas na silagem de ração em mistura total / Rasiel Restelatto. -
Curitiba, 2018.
119 p.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
Orientador: Patrick Schmidt

1. Silagem - Aditivos. 2. Ensilagem. 3. Rações - Aditivos. 4.
Nutrição animal. I. Schmidt, Patrick. II. Título. III. Universidade
Federal do Paraná.

CDU 636.085.52



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de doutorado de **RASIEL RESTELATTO** intitulada: **Perfil fermentativo, composição químico-bromatológica e perdas na silagem de ração em mistura total**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 20 de Setembro de 2018.



PATRICK SCHMIDT

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



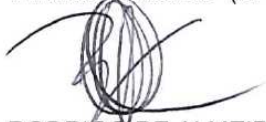
JOÃO LUIZ PRATTI DANIEL

Avaliador Externo (UEM)



LUIZ FELIPE FERRARETTO

Avaliador Externo (UF)



RODRIGO DE ALMEIDA

Avaliador Interno (UFPR)

Dedico...

FAMÍLIA, não importa as situações ou os obstáculos da vida, vocês representam meu alimento diário, minha força motivadora, minha inspiração... Mesmo sem a presença física de vocês em muitos momentos difíceis, eu podia sentir a presença de vocês. AMO MUITO TODOS VOCÊS.

À minha esposa Camila N. Restelatto, pela confiança, por me ouvir, entender, acreditar que era possível, compartilhando comigo todos os momentos, permanecendo incontestavelmente ao meu lado. Por todo o amor que dedica a mim, me apoiando, motivando e aconselhando sempre.

Aos meus pais Dilva e Nadir Restelatto, pessoas queridas e amadas que sempre estão ao meu lado, dispostos a me ajudar incondicionalmente. Pai e Mãe vocês são exemplo de caráter, conduta, esforço, e acima de tudo de dignidade. Seus exemplos falam mais que mil palavras.

Aos meus dois irmãos Ronivam e Robson Restelatto pela amizade, companheirismo, confiança, amor e acima de tudo por serem meus melhores amigos.

Aos sobrinhos Guilherme, Antonella, Heloisa, Elias e Bernardo por mostrar que na vida as coisas simples são essências para se obter a felicidade.

À minha sogra, cunhadas e cunhados, obrigado pelas orações, apoio e confiança depositada em mim.

E enfim, a todos que de certa forma me ajudaram e me apoiaram.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pela oportunidade de estudar, trabalhar, pensar, e ter me destinado conhecer pessoas e caminhos agradáveis e inesquecíveis. Obrigado meu Deus.

A minha esposa, por toda a compreensão, apoio, amizade, carinho, paciência e amor que demonstrou durante essa caminhada, e não economizou esforços para que tudo isso acontecesse. Obrigado meu amor por tornar à minha vida mais alegre, e mostra-me a cada dia o verdadeiro significado do amor. TE AMO.

Aos meus pais por me apoiarem, me darem força, por serem os mediadores da minha vida, pelo amor e exemplo de pessoas batalhadoras, dedicadas, esforçadas e honestas. Agradeço e peço desculpa por estar longe em vários momentos especiais. Muito obrigado PAI e MÃE.

Aos meus irmãos pelo apoio, força nos momentos que precisei, por serem exemplo de pessoas honestas, trabalhadores, e dedicados os quais tenho como exemplos para segui-los e muito orgulho de dizer que são MEUS IRMÃOS e MELHORES AMIGOS. Muito obrigado por tudo.

Aos meus sobrinhos (Guilherme, Elias e Bernardo) e sobrinhas (Antonella e Heloisa) que mostram a cada dia que a felicidade está nas coisas simples da vida, e que na correria do dia a dia acabamos esquecendo a importância de um abraço ou simplesmente de um sorriso verdadeiro. Muito obrigado.

As minhas cunhas (Cristiane e Keli), por fazerem meus irmãos e minha família felizes e por me ajudarem sempre que precisei. Muito obrigado.

À minha sogra, pelas orações e pedidos, por me acolher como se fosse um filho e por me presentear com sua filha. Muito obrigado.

Aos meus cunhados (Josmar, Joel e Joelcio) e minhas cunhadas (Neide e Pamela) por confiarem em mim e me apoiarem. Muito obrigado.

Ao professor Dr^o. Patrick Schmidt, pela orientação, conhecimento repassado, pela sinceridade e honestidade. Obrigado por tudo.

Aos professores Dr^a. Maity Zopollatto e Dr^o. Rodrigo de Almeida pela participação em meu comitê de orientação e as valiosas contribuições no desenvolvimento do trabalho, e pelo conhecimento repassado. Muito obrigado.

Ao Dr^o. Igor Quirrenbach de Carvalho pela participação em meu comitê de orientação e suas contribuições durante a qualificação.

Aos amigos e amigas do grupo CPFOR, Charles Ortiz Novinski, Lucélia de Moura Pereira, Eduardo Pachemshi, Ariadne P. Mastelaro, Denise Volpi e Tamiris Lara. Obrigado por toda ajuda no desenvolvimento do projeto, e pelo companheirismo.

Aos colegas e amigos Rafael Batista, Sandro José Paixão, Cleverson de Souza, Renato Marchesan, Junior Pegorini. Obrigado por me ajudarem sempre que precisei.

Ao Laboratório de Bromatologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em especial ao Carlos Cesar Alves (Cesar) e Édson (Tirolês), pela ajuda com as análises bromatológicas, pelos cafés e pelas boas conversas.

Ao Laboratório da Fundação ABC e a colega Maryon Strack Dalle Carbonare pela ajuda com as análises de amido.

Aos amigos Daniel Junges, Valdson da Silva, Gustavo Salvati e Willian Perreira dos Santos pela ajuda durante a minha estadia em Piracicaba.

À Nobre Nutrição Animal por confiar no grupo CPFOR e por financiar grande parte desta pesquisa.

Aos portais AGRIPPOINT e MILKPOINT em especial Raquel Maria Cury Rodrigues e o CEO Marcelo P. Carvalho pela ajuda na divulgação do questionário *online* para os produtores de leite de todo o Brasil.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado no Brasil e da concessão da bolsa de doutorado sanduíche no exterior.

Ao Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia pelo acolhimento e ajuda durante os 7 meses de trabalho.

Ao professor Dr^o Antonio Faciola pela amizade, conhecimento repassado, orientação, receptividade, honestidade, conselhos e por sempre estar pronto para me ajudar e esclarecer dúvidas, mesmo que às vezes distante. Agradeço imensamente.

Aos colegas do Faciola Lab., em especial Eduardo Marostegan de Paula, Lorryny Galoro da Silva, Hugo Monteiro, Xiaoxia Dai, Virginia Lucia Neves Brandão, Jose A. Arce-Cordero, André Sanches de Avila, Andressa Faccenda, Ana Laura Lelis, Perivaldo de Carvalho, Leni Rodrigues Lima, Ana Luiza M. Gomes, obrigado pela amizade, pelo aprendizado, receptividade, ajuda e pelos felizes momentos que passamos juntos. Muito obrigado.

Ao Laboratório Faciola, pelo aprendizado adquirido e por aceitar a realização do doutorado sanduíche. Muito obrigado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - PPGZ e a todos os professores da Universidade Federal do Paraná pela disponibilidade de um curso de Doutorado em Zootecnia. Muito obrigado.

"A alegria é um poder. Cultive-o."

(Dalai Lama)

If I try my best and fail, well, I've tried my best.

(Steven Paul Jobs)

“Dizem que a vida é para quem sabe viver, mas ninguém nasce pronto. A vida é para quem é corajoso o suficiente para se arriscar e humilde o bastante para aprender.”

(Clarice Lispector)

RESUMO

A silagem de ração em mistura total (RMT) é uma prática já utilizada em algumas partes do mundo, porém pouco estudada no Brasil. O presente trabalho teve por objetivo avaliar fatores associados à ensilagem da RMT, com destaque na aplicação de aditivos microbianos e seus efeitos sob o perfil fermentativo em dois períodos de abertura. Quantificar as perdas causadas por erros de manejo durante a ensilagem da RMT, bem como avaliar o conhecimento, e quais as vantagens e desvantagens que os produtores de leite têm quando utilizam essa tecnologia em suas fazendas. No primeiro experimento, avaliou-se o uso de aditivos microbianos (*L. plantarum* e *L. buchneri*) e seus efeitos sob as características fermentativas, perdas durante o período de armazenamento, e na estabilidade em aerobiose das silagens de RMT ensiladas por 15 e 60 dias. A inclusão dos aditivos diminuiu o teor de FDN e a concentração de ácido butírico nas silagens de RMT ensiladas por 15 dias, e o tratamento com *L. plantarum* apresentou menor tempo (50 h) para que houvesse a quebra da estabilidade em aerobiose e as maiores perdas de MS (23,3% MS) após a abertura dos silos. O período de abertura de 60 dias apresentou os melhores valores para as perdas totais da fermentação, contagens microbianas, estabilidade em aerobiose, concentração do ácido láctico e ácido acético e os piores valores para o nitrogênio amoniacal e a degradabilidade ruminal *in vitro* do amido. No entanto, o tratamento com o *L. plantarum* foi o mais eficiente para diminuir o pH no período de abertura de 60 dias. Os tratamentos não tiveram efeito sobre os teores de MS, PB, FDA, digestibilidade *in vitro* da MS, cinzas, EE e amido. Contudo, concluímos que os aditivos *L. plantarum* e *L. buchneri* não melhoraram o perfil fermentativo, não prolongaram a estabilidade aeróbia e não reduziram as perdas, e o período de abertura com 60 dias foi melhor para as silagens de RMT. O segundo experimento teve como objetivo avaliar o desaparecimento da MS, composição química, temperatura interna e contagens microbianas da RMT ensiladas em fardos cilíndricos com e sem furos no filme plástico de vedação. O teor de MS, a recuperação de MS e o pH da silagem de RMT foram levemente afetados pelos furos no filme plástico de vedação realizados durante o armazenamento. No entanto, a composição bromatológica, contagem microbiana e a temperatura não foram afetadas pelos tratamentos. Embora a presença de furos no filme de vedação da silagens de RMT deva ser evitada, dois furos de 25 cm² no filme plástico não foram capazes de causar perdas expressivas na silagem de RMT. O terceiro experimento teve como objetivo investigar o interesse e o conhecimento dos produtores de leite sobre a silagem de RMT, através de um questionário exploratório *online* e de uma pesquisa descritiva-quantitativa presencial. A maior parte (69%) dos produtores que participaram do questionário *online* nunca ouviu falar sobre a comercialização da RMT na forma de silagem, ou se ouviram, não sabem ao certo o que significa. As regiões Sul e Sudeste foram as que mais participaram da pesquisa, e o sistema de produção a pasto esteve presente em 67% das fazendas que participaram do questionário *online*. Nas fazendas entrevistadas, a comodidade e a diminuição na mão de obra foram as principais vantagens da silagem de RMT, porém o elevado custo da dieta e do transporte até as fazendas foram as principais desvantagens. Através dos resultados obtidos com os questionários, conclui-se que existe um grande número de produtores de leite no Brasil que nunca ouviu falar sobre a comercialização da silagem de RMT, mas têm interesse em conhecer, independente do sistema produção, e do tamanho do rebanho. Contudo o futuro da comercialização da silagem de RMT depende de vários fatores, sendo a viabilidade econômica o principal determinante.

Palavras-chave: Aditivos microbianos. Ensilagem. Perdas fermentativas. RMT.

ABSTRACT

The total mixed ration (TMR) silage is a practice already used in some parts of the world, but little studied in Brazil. The objectives of the present work were to evaluate the factors associated with the ensiling of TMR, with emphasis on the application of microbial additives and their effects under the fermentation profile, in two opening periods. Quantify the losses caused by management errors during the ensiling of the TMR, as well as the knowledge, and what the advantages and disadvantages that the Brazilian milk farmers has when using this technology in their farms. In the first experiment, our objectives were to evaluate the effects of microbial additives (*L. plantarum* and *L. buchneri*) on fermentation traits, storage losses, microbial counts, as well as the aerobic stability of TMR silages, ensiled for 15 or 60 days. The inclusion of additives decreased NDF content and butyric acid concentration in TMR ensiled for 15 days, and the *L. plantarum* treatment had the shortest time (50 h) for aerobic stability break down and the greatest losses of DM (23.3% DM) after the silo opening. Storage period of 60 days had the best values for total fermentation losses, microbial counts, aerobic stability, lactic acid and acetic acid concentrations, and the worst values for the ammonia nitrogen and ruminal *in vitro* starch degradability, however, *L. plantarum* treatment was the most efficient to reduce pH on a storage period of 60 days. Treatments had no effect on DM, CP, ADF contents, *in vitro* DM digestibility, ash, EE and starch. In conclusion, the additives *L. plantarum* and *L. buchneri* did not improve the fermentation profile, did not prolong the aerobic stability, and did not reduce the losses. Also, a storage period of 60 days was better for TMR silages. The second experiment aimed to evaluate the DM disappearing, chemical composition, internal temperature, and microbial counts of TMR ensiled in round bales with and without holes in the sealing plastic film. The DM content, DM recovery, and pH of the TMR silage were slightly affected by the holes in the plastic sealing during the storage. However, the chemical composition, microbial counts and temperature were not affected by treatments. Although the presence of holes in the sealing process and storage of TMR silages must be avoided, two holes of 25 cm² in the plastic film were not capable of causing expressive losses in TMR silage. The third experiment aimed to investigate the interest and knowledge of dairy farmers on TMR silage, through an online exploratory questionnaire and a descriptive quantitative research. The larger proportion (69%) of the dairy farmers who participated in the online questionnaire have never heard about of the commercialization of TMR in the silage form, or if they have heard, they are not sure what it means. The South and Southeast regions were the ones that participated most in the research, and the pasture production system was present in 67% of the properties that participated in the online questionnaire. In the dairy farms interviewed, the easiness and the decrease in labor were the main advantages of TMR silage, but the high cost of diet and the transport until to the farms were the main disadvantages. From the results obtained with the questionnaires, it is concluded that there are a large number of dairy farmers in Brazil who have never heard about the commercialization of TMR silage but are interested in knowing, regardless of the production system, and the size of the herd. However, the future of the commercialization of TMR silage depends on several factors, but economic viability is the main determinant.

Key-words: Ensiling. Fermentative losses. Microbial additives. TMR.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	36
Figura 1. Efeitos dos aditivos heterofermentativos sob a temperatura (A e B) e pH (C e D) da silagem de RMT exposta ao ar após a abertura	50
CAPÍTULO II	64
Figura 1. Termo imagens da câmara termográfica (corte longitudinal (A), corte longitudinal com imagem termográfica sobreposta (B) e os pontos de coleta (temperatura no centro (C); temperatura nas extremidades(D)) no painel dos silos da silagem de RMT.....	68
Figura 2. Temperatura ambiente e temperatura média no interior dos silos da silagem de RMT armazenados por 60 dias com ou sem furo no filme plástico de vedação	72
CAPÍTULO III	83
Figura 1. Conhecimento dos produtores que participaram do questionário <i>online</i> sobre a possibilidade de comercialização da RMT ensilada	87
Figura 2. Distribuição de frequência dos respondentes à pergunta: Você acha que a RMT ensilada poderia vir a ser utilizada em sua fazenda?.....	88
Figura 3. Distribuição de frequência dos respondentes à pergunta: Em caso afirmativo, para a comercialização da RMT ensilada, quantos meses do ano você acredita que poderia usá-la.....	88
Figura 4. Produtividade média de leite (kg/vaca/dia) informada pelos produtores que participaram da pesquisa <i>online</i>	90
Figura 5. Número de animais em lactação nos rebanhos dos produtores que participaram do questionário <i>online</i>	91
Figura 6. Principais sistemas de produção nas fazendas que participaram do questionário <i>online</i>	92
Figura 7. Distribuição de frequência dos respondentes à pergunta: Em sua opinião, qual seria um preço aceitável por tonelada de uma dieta balanceada para vacas de 25 litros de leite dia (valor sem o frete).....	93
Figura 8. Quais os pontos negativos que os produtores têm quando utilizam a silagem de RMT.....	97
Figura 9. Quais os principais pontos positivos elencados pelos produtores que utilizam a silagem de RMT em suas fazendas	98
Figura 10. Preocupação dos produtores sobre a integridade do filme plástico de vedação das silagens de RMT	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Populações típicas, grupos bacterianos e fúngicos das forragens antes da ensilagem.....	24
Tabela 2. Rotas de fermentação predominante das bactérias ácido lácticas	27
CAPÍTULO I.....	36
Tabela 1. Ingredientes da RMT usada para ensilagem	39
Tabela 2. Composição químico-bromatológica e contagem microbiana da RMT antes da ensilagem.....	39
Tabela 3. Composição química-bromatológica das silagens de RMT inoculadas com aditivos microbianos	44
Tabela 4. Efeitos dos aditivos heterofermentativos nos valores de pH e nos produtos da fermentação da silagem de RMT.....	46
Tabela 5. Efeitos dos aditivos heterofermentativos no volume de gás produzido (VG) e as perdas fermentativas das silagens de RMT	47
Tabela 6. Efeitos dos aditivos heterofermentativos na contagem microbiana e na estabilidade aeróbia das silagens de RMT.....	49
CAPÍTULO II.....	64
Tabela 1. Ingredientes, pH, composição química-bromatológica e contagem microbiana da RMT antes da ensilagem.....	67
Tabela 2. Teor de MS, recuperação de MS e composição química-bromatológica da silagem de RMT ensilada por 60 dias com ou sem furos no filme plástico de vedação	71
Tabela 3. Contagens microbianas da silagem de RMT ensilada por 60 dias em com ou sem furos no filme plástico de vedação	71
Tabela 4. Temperatura média no centro, nas extremidades e o delta médio (Δt) obtidos das imagens termográfica do painel dos silos no momento da abertura dos silos de RMT.....	72
CAPÍTULO III.....	83
Tabela 1. Frequência observada (%) entre os tipos de sistemas de produção, tamanho do plantel e produção de leite diária em cada região do Brasil, baseada nas respostas dos produtores que participaram do questionário <i>online</i>	94
Tabela 2. Dados sobre a alimentação e a produção de leite das 12 fazendas que participaram do questionário presencial	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC	- Association of Official Analytical Chemistry
BAL	- Bactérias Ácido Láticas
C	- Carbono
Cepea	- Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
CO ₂	- Dióxido de Carbono
CPFOR	- Centro de Pesquisas em Forragicultura
DIVMS	- Digestibilidade <i>in vitro</i> da Matéria Seca
DegAm	- Degradabilidade ruminal <i>in vitro</i> do Amido
EA	- Estabilidade Aeróbia da silagem
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
mol	- Unidade de medição dos compostos orgânicos
MN	- Matéria Natural
MS	- Matéria Seca
MV	- Matéria Verde
N-NH ₃	- Nitrogênio Amoniacal
O ₂	- Oxigênio
PerE	- Perdas por Efluentes
PerG	- Perdas por Gás
PerTMS	- Perdas Totais de MS
PMSea	- Perdas Totais de MS após a silagem ser exposta ao ar
RMT	- Ração em Mistura Total
ufc	- Unidades Formadoras de Colônia
VG	- Volume de Gás produzido

SUMÁRIO

1.0 Introdução	17
2.0 Revisão de literatura	18
2.1 Silagem de ração em mistura total (RMT)	18
2.2 Processos fermentativos das silagens	21
2.2.1 Fase aeróbica	22
2.2.2 Fase de fermentação	22
2.2.3 Fase estável	24
2.2.4 Fase de abertura e/ou retirada	25
2.3 Aditivos microbianos para silagem	25
2.4 Estabilidade em aerobiose	29
2.5 Referências	30
3.0 CAPÍTULO I - Composição química, perdas fermentativas, períodos de ensilagem e contagens microbianas das silagens de ração em mistura total inoculadas com diferentes espécies de <i>Lactobacillus</i>	36
Resumo:	36
Palavras chave:	36
3.1 Introdução	37
3.2 Material e métodos	38
3.2.1 Composição das dietas e dos tratamentos	38
3.2.2 Processo de ensilagem e coleta das amostras	40
3.2.3 Análises químico-bromatológicas e microbianas	41
3.2.4 Desenho experimental e análise estatística	42
3.3 Resultados	43
3.4 Discussão	51
3.5 Conclusão	58
3.6 Referências	59
4.0 CAPÍTULO II – Efeito dos furos no filme plástico de vedação sobre as perdas químico-bromatológicas na ração em mistura total ensilada em fardos cilíndricos	64
Resumo:	64
Palavras chave:	64
4.1 Introdução	65

4.2 Material e métodos.....	66
4.3 Resultados.....	70
4.4 Discussão.....	73
4.5 Conclusão.....	79
4.6 Referências.....	79
5.0 CAPÍTULO III - Percepção dos produtores sobre a técnica da ensilagem da ração em mistura total.....	83
Resumo:.....	83
Palavras chave:.....	83
5.1 Introdução.....	84
5.2 Material e métodos.....	85
5.3 Resultado e discussões.....	86
5.4 Conclusões.....	100
5.5 Referências.....	100
6.0 Considerações finais do trabalho.....	103
7.0 Recomendações para trabalhos futuros.....	104
8.0 Referências.....	105
Anexo A - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	115
Anexo B - Modelo do questionário <i>online</i>.....	116
Anexo C - Modelo do questionário descritivo presencial aos produtores que utiliza silagem de RMT.....	117
9.0 Biografica.....	119

1.0 INTRODUÇÃO

A silagem é um alimento conservado usado na alimentação animal que passa por vários processos, os quais quando realizados corretamente resultam na preservação de quase toda matéria seca e a energia bruta da planta. Isso ocorre devido às bactérias anaeróbias converterem os carboidratos solúveis do material ensilado em ácidos orgânicos, e outros produtos da fermentação (aldeídos, ésteres, álcoois e cetonas) tornando o meio impróprio para o crescimento de microrganismos indesejáveis (McDonald et al., 1991; Daniel, 2011). De acordo com McDonald et al. (1991), ao criarmos um ambiente anaeróbio, diversas espécies forrageiras, coprodutos e suas misturas podem ser utilizados para a produção de silagem, desde que esses materiais tenham teores desejados de carboidratos solúveis e matéria seca.

Em países como Japão (Wang e Nishino 2008; Miyaji e Nonakat, 2018), Irã (Abdollahzadeh et al., 2010), Israel (Weinberg et al., 2011), Finlândia (Seppala et al., 2012) e China (Hu et al., 2015) a prática de misturar e ensilar coprodutos com os demais ingredientes na ração dos ruminantes, também conhecida como silagem de ração em mistura total (RMT) está sendo difundida positivamente, pois apresenta características desejáveis de conservação, evita que os coprodutos se tornem poluentes ambientais, e diminui a competição dos animais com os seres humanos pelos grãos.

No Brasil a utilização da silagem de RMT vem ganhando força, e está sendo comercializada com o intuito de auxiliar os produtores que sofrem com falta de mão-de-obra qualificada, que possuem pouca área de terra, maquinários inadequados para misturar e fornecer uma ração bem balanceada aos animais, não têm escala para compra de insumos, e/ou até mesmo falta de conhecimento ou de assistência técnica para formular rações de qualidade. Porém, até o momento poucos são os trabalhos realizados com essa tecnologia em nosso país, e várias dúvidas estão surgindo. Temos como hipóteses que: 1) a utilização de aditivos microbianos *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri* nas silagens de RMT podem diminuir as perdas durante o processo fermentativo e após a abertura do silo; 2) erros de manejo que permitam a entrada de ar durante a vedação e o transporte das silagens de RMT podem proporcionar perdas devido a proliferação de microrganismos indesejáveis; 3) vários produtores de leite no Brasil não têm um conhecimento claro sobre a comercialização da silagem de RMT.

Os objetivos de nosso trabalho foram, avaliar fatores associados à ensilagem da RMT, com destaque na aplicação de aditivos microbianos e seus efeitos sob o perfil fermentativo em dois períodos de abertura (15 e 60 dias); quantificar as perdas causadas por

erros de manejo durante a ensilagem da RMT e; avaliar o conhecimento e quais as vantagens e desvantagens os produtores de leite têm quando utilizam a silagem de RMT em suas fazendas como principal fonte de alimento para seus rebanhos.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Silagem de ração em mistura total (RMT)

A busca por novas tecnologias na produção e conservação de forragens é constante e antiga, pois o primeiro trabalho documentado sobre produção de silagem foi em 1842, de autoria de Grieswald e foi publicado no “*Transactions of the Baltic Association for the Advancement of Agriculture*” (McDonald et al., 1991). A partir desta publicação a confecção de silagem com o intuito de saber quais são as transformações bioquímicas que ocorrem durante o processo fermentativo, quais culturas podem ser conservadas na forma de silagem, e quais aditivos são os mais eficientes, tornaram-se alvo de pesquisadores no mundo todo.

Dentre as espécies forrageiras existente no mundo, inúmeras delas podem ser utilizadas para a produção de silagem, como por exemplo: o milho (*Zea mays*), uma das culturas que serve de referência na produção de silagem devido a concentração de carboidratos solúveis, teor de massa seca (MS), alto valor nutritivo, facilidade no plantio e colheita, e pelos seus bons índices produtivos (McDonald et al., 1991), cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L) pela sua elevada produtividade de massa verde (MV) e baixo custo por kg de MS (Schmidt et al., 2011), sorgo (*Sorghum bicolor*) pela sua resistência aos fatores climáticos (Upadhyaya et al., 2010, Restelatto et al., 2013), girassol (*Helianthus annuus*) por ser tolerante as deficiências hídricas (Freitas et al., 2010), capim elefante (*Pennisetum purpureum*) pelo seu potencial de produção MV (Amaral et al., 2008), silagem consorciada de gramíneas pelo seu potencial de aumento no rendimento na produção de MV (Da Silva et al., 2014), dentre outras.

Além das espécies forrageiras, inúmeros coprodutos e suas misturas podem ser conservados através da silagem, como por exemplo, bagaço de tomate e maçã (Abdollahzadeh et al., 2010), bagaço de caju (Silva et al., 2011), bagaço de laranja (Rego et al., 2012), resíduos de cervejarias (Geron et al., 2008), casca de mandioca (Martins et al., 2000), casca de café (Souza et al., 2005), resíduos de frutas *in naturas* (abacaxi, manga, goiaba, mamão) oriundos de fábricas de suco (Azevêdo et al., 2011), resíduos de chá verde (Wang et al., 2011), bagaço de pêssego (Hu et al., 2015), dentre outros. No entanto esses coprodutos

ensilados sozinhos sofrem elevadas perdas, principalmente pela elevada concentração de umidade e baixas concentrações de carboidratos solúveis. Uma alternativa para diminuir essas perdas durante o processo fermentativo quando ensilados, e a mistura com outros ingredientes mais secos e com maior concentração de carboidratos solúveis (Nishino et al., 2003a; Xu et al., 2007; Hu et al., 2015). Este manejo quando realizado corretamente cria um ambiente favorável ao crescimento de microrganismos desejáveis durante o processo fermentativo das silagens.

De acordo com Wang e Nishino (2008), a produção da silagem de RMT começou a ser mais pesquisada no Japão devido ao excesso de coprodutos que estavam sendo gerados pelas indústrias alimentícias. Em 2001, o governo Japonês preocupado com a elevada produção de coprodutos industriais, criou a lei conhecida como: lei dos “3 Rs”, que significa reduzir, reutilizar e reciclar (Imai, 2001; Nishino et al., 2003b). A partir de então, várias pesquisas foram iniciadas, dentre elas ensilar os coprodutos úmidos juntamente com o volumoso e concentrado na dieta dos ruminantes.

De acordo com Nishino et al. (2003a), comercializar a ração pronta contendo volumosos, cereais, alimentos proteicos, minerais, vitaminas, aditivos e coprodutos na forma de silagem pode ser uma ferramenta importante, pois reduz a mão de obra nas fazendas onde adquirem essa tecnologia, e evita que os coprodutos se tornem poluentes ambientais. Nishino (2006), afirmam que vários ingredientes, e coprodutos podem ser utilizados para ensilar uma RMT com teores de MS acima de 40%, proteína bruta em torno de 16 a 18%, e digestibilidade da matéria natural acima de 72%, sem que haja perdas expressivas durante o processo fermentativo e após a abertura dos silos.

Xu et al. (2007) ao substituírem 100% dos coprodutos de cervejaria por resíduos úmidos de chá verde na silagem da RMT, não encontraram produção de ácidos propiônico e butírico durante os 45 dias de ensilagem do material, concluindo que a substituição total dos coprodutos das cervejarias por resíduos úmidos de chá verde não interfere no processo fermentativo e no consumo voluntário da RMT pelos animais. Cao et al. (2010) ao avaliarem os efeitos da silagem de RMT na digestibilidade, características de fermentação ruminal, emissões de metano e perda de energia em ovinos, concluíram que a silagem RMT aumenta a digestibilidade dos nutrientes e diminui a emissão de metano ruminal e das perdas de energia em comparação com RMT fresca, e que o efeito na diminuição do metano causado pela silagem de RMT pode contribuir para a conversão do ácido láctico em ácido propiônico no rúmen.

Wang e Nishino (2013) ao avaliarem a influência de diferentes temperaturas de armazenamento no processo fermentativo, na estabilidade aeróbica e na comunidade microbiana da silagem de RMT, formulada com mais de 30 ingredientes, concluíram que a temperatura de armazenamento elevada aumenta a produção de ácido acético e a população de bactérias ácido lácticas, sem acarretar perdas expressivas durante o processo fermentativo. Chen et al. (2015) complementam que a silagem de RMT é uma tecnologia inovadora que está surgindo com intuito de auxiliar os produtores no trabalho diário da preparação da RMT, e melhorar a preservação dos ingredientes. Miyaji et al. (2013) ao substituírem 100% do grão de milho por arroz integral e coprodutos de soja na silagem de RMT, formulada para vacas leiteiras de alta produção (± 45 kg de leite/dia), concluíram que a silagem de RMT é uma alternativa eficiente, pois diminuiu as perdas de nitrogênio na urina, sem acarretar efeitos adversos no consumo e na produção de leite. Os autores complementam que mais experimentos com a silagem de RMT devem ser realizados com o intuito de aperfeiçoar essa nova tecnologia. Miyaji et al. (2018) ao avaliarem o efeito de dois métodos de processamento físicos em arroz descascado, concluíram que vacas alimentadas com silagem de RMT tiveram um aumento na digestibilidade dos nutrientes, uma tendência de aumento no consumo de MS e uma maior produção de leite em ambos os métodos de processamento físico dos grãos de arroz, em relação à RMT fresca.

De acordo com McDonald (1991), nas silagens de gramíneas, perdas de matéria seca (MS) durante o processo fermentativo são aceitáveis, porém, existe alguns manejos que podem auxiliar para diminuí-las, como por exemplo: saber o teor de MS e a concentração dos carboidratos solúveis do material a ser ensilado, tamanho de partícula, utilização de aditivos, compactação e vedação do silo, tamanho da fatia de corte do silo após abertura, dentre outros. No entanto, para a silagem de RMT, essas informações em nosso país ainda são escassas, e precisam ser melhores esclarecidas. Nishino et al. (2004) avaliando a utilização do aditivo *Lactobacillus buchneri* em silagens de RMT ensiladas por 10 e 60 dias, concluíram que o aditivo *L. buchneri* é eficiente em diminuir as perdas após a abertura dos silos pois diminuiu a população de leveduras e inibiu a deterioração aeróbia nas silagens de RMT quando ensilados por 60 dias. Liu et al. (2016) ao avaliarem a utilização do *Lactobacillus plantarum* consorciado com enzimas fibrolíticas no processo fermentativo das silagens de RMT, concluíram que o consórcio entre os aditivos (*L. plantarum* + enzimas fibrolíticas) melhorou a qualidade fermentativa da silagem de RMT, e aumentou a recuperação da matéria seca. Wang e Nishino (2008), ao estudarem os efeitos da inclusão de 200 ml de ar em 300 g de silagens de

RMT ensilados por 14 e 56 dias encontram uma diferença significativa entre os valores de pH, em ambos os períodos de abertura, mostrando que os tratamentos com infiltração de ar apresentaram os maiores valores de pH.

Como podemos observar na literatura (Nishino et al., 2003; Nishino et al., 2004; Xu et al., 2007; Wang e Nishino, 2008; Cao et al., 2010; Miyaji et al., 2013, Wang e Nishino, 2013; Chen et al., 2015; Liu et al. 2016; Miyaji et al., 2018), a prática de ensilar a RMT é crescente em alguns países da Ásia e Oriente Médio devido suas características positivas. No entanto, no Brasil poucas informações científicas estão disponíveis. Até o presente momento, apenas uma empresa está comercializando silagem de RMT para fazendas que por algum motivo não conseguem produzir alimento de qualidade e em quantidade o ano todo para os seus rebanhos. Contudo, devido à falta de informações sobre este assunto principalmente em nosso país, várias são as dúvidas que precisam ser esclarecidas, e novas pesquisas são necessárias.

2.2 Processos fermentativos das silagens

A preservação das silagens com elevado valor nutritivo está ligada diretamente com a colheita da forragem no estágio correto de maturação, diminuição das atividades enzimáticas e da população epifítica indesejável presentes naturalmente nas forragens, e principalmente da criação de um ambiente adequado para que ocorra a dominância das bactérias ácido lácticas (BAL) o mais rápido possível após a compactação e vedação do silo (McDonald, 1980). De acordo com Muck (2010), quando se ensila qualquer tipo de material com as características desejáveis para ser armazenado na forma de silagem, o principal objetivo é criar um ambiente adequado para tentar controlar a atividade microbiana através da combinação entre anaerobiose e a fermentação natural dos açúcares pelas BAL presentes na cultura.

Para diminuir ao máximo as perdas nas forragens durante o processo fermentativo, conhecer qual o teor de MS, o conteúdo de açúcar e a resistência a acidificação do material a ser ensilado são fatores essenciais. De acordo com Bolsen et al. (1996), existem 4 fases que ocorre durante a preservação das forragens na forma de silagem: 1) aeróbica, 2) fermentativa, 3) estável e 4) abertura do silo ou retirada. Cada uma delas possui características distintas com diferentes durações, e que devem ser controladas a fim de manter a qualidade da forragem ao longo de todos os processos, pois qualquer erro ou falha em uma dessas fases pode acarretar perdas expressivas.

2.2.1 Fase aeróbica

Para se iniciar a produção de silagem, é necessário que chegue até o silo a forragem picada, a partir de então se iniciam duas importantes atividades enzimáticas, a respiração e proteólise (Bolsen et al. 1996). De acordo com McDonald (1991), a respiração ocorre até que haja o consumo completo do oxigênio (O₂) e a quebra dos açúcares dos vegetais em dióxido de carbono (CO₂) e água, liberando calor. Simultaneamente, as proteases vegetais degradam algumas proteínas principalmente em aminoácidos e amônia e, em menor escala, em peptídeos e aminas (asparagina e glutamina). Além da atividade das plantas, microrganismos aeróbicos ou aeróbicos facultativos como mofos, leveduras e algumas bactérias, também estão ativos, promovendo respiração e geração de calor.

A presença de açúcares no momento que se inicia o processo de ensilagem é crucial quando se fala em preservação da silagem, pois os açúcares são o principal substrato das bactérias ácido lácticas (BAL) para produção de ácido, o qual irá auxiliar na conservação da forragem. Outro fator importante na fase aeróbica é a excessiva produção de calor ($\geq 42 - 44$ °C), o qual pode resultar na reação de Maillard ou escurecimento, o que reduz a digestibilidade da proteína e da fibra (Bolsen et al., 1996).

Quando a temperatura do ambiente está agradável (≥ 20 °C), e a forragem for bem picada, bem compactada e o silo vedado corretamente o mais rápido possível, a fase aeróbica pode ser minimizada, o que é desejável pois auxilia na preservação da qualidade das forragens (McDonald et al., 1991; Muck, 2010).

2.2.2 Fase de fermentação

Quando o ambiente anaeróbico é alcançado no silo, os microrganismos anaeróbicos começam a se proliferar, sendo as BAL a microflora mais importante, pois a preservação das forragens ocorre principalmente devido as produções e concentrações do ácido láctico (Bolsen et al., 1996). Muck (2010), comenta que outros microrganismos, como bacilos, enterobactérias, leveduras, fungos e clostrídios têm impactos negativos na grande maioria das vezes nas silagens, pois competem com as BAL por carboidratos fermentáveis, e muitos de seus produtos não têm ação conservante.

De acordo com Lin et al. (1992) e Muck (2010), as enterobactérias se desenvolvem bem em pH entre 5 e 7, e são as principais concorrentes das BAL pelos açúcares do material ensilado, porém quando pH baixa de 4,5 a maioria das cepas não consegue mais se desenvolver, e sua população, as quais são elevadas nas forragens antes da ensilagem,

permanecem ativas somente durante as primeiras 12 à 36 horas. A partir daí seus números diminuem rapidamente, e elas não são mais um fator preocupante da fase de fermentação.

O crescimento de esporos clostridiais também podem afetar negativamente a qualidade das silagens. McDonald (1991), comenta que os clostrídios podem causar uma fermentação secundária, convertendo açúcares em CO₂, hidrogênio (H₂) e ácido butírico, promovendo elevadas perdas de MS e energia. De acordo com Muck (2010), os clostrídios são anaeróbios obrigatórios, e seus efeitos sobre a qualidade da silagem geralmente ocorrem depois que as BAL param de crescer ativamente no silo, e são divididas em três grupos: clostrídios proteolíticos que fermentam aminoácidos, o grupo *Clostridium butyricum* que fermenta carboidratos, e o grupo *Clostridium tyrobutyricum* que fermenta alguns açúcares. Os clostrídios proteolíticos produzem vários compostos na catalisação de aminoácidos, os mais significativos são amônia, aminas e CO₂, e os principais produtos do grupo *Clostridium butyricum* e *Clostridium tyrobutyricum* são: ácido butírico, ácido acético, H₂ e CO₂.

Igual as enterobactérias, os clostrídios são sensíveis ao pH baixo, porém, requerem ambientes mais úmidos para desenvolverem suas atividades. Bolsen et al. (1996), comentam que o crescimento de clostrídios é raro em forragens ensiladas com teores MS acima de 35%, por causa da concentração dos açúcares prontamente disponíveis. A disponibilidade dos açúcares para as BAL faz com que o pH do material caia rapidamente a níveis inferiores de 4,5 criando um ambiente inadequado para o crescimento dos clostrídios.

O período de fermentação “ativa” das silagens dura entre 7 a 21 dias (McDonald, 1991; Bolsen et al., 1996), dependendo dos teores de MS e da população microbiana. Segundo Spoelstra e Hindle (1989) e Muck (2010), a população epifítica das silagens (Tabela 1), podem ser afetadas por diversos fatores, dentre eles: espécie forrageira, estágio de maturação, clima, tempo em que o material permanece desidratando no campo, dentre outros, e podem interferir diretamente nos produtos finais da fermentação e na preservação da matéria seca e a energia do material.

McDonald (1991) e Muck (2010), comentam que a cultura ensilada contém microrganismos aeróbios e anaeróbicos e uma variedade de bactérias e fungos que afetam a qualidade da silagem, e muitas vezes, as BAL as quais são fundamentais para que ocorra uma boa preservação da qualidade do material ensilado podem estar em ordem de magnitude menores do que outros grupos de microrganismos. Neste cenário, além de disponibilizar um ambiente favorável, é fundamental adicionar populações selecionadas de BAL no material a ser ensilado através dos aditivos. Muck (2013) em sua revisão comentando que as novas

tecnologias para identificar e quantificar espécies de bactérias em silagens estão favorecendo para se ter um maior conhecimento sobre o assunto, mas ainda temos muito que conhecer e aprender sobre a população microbiana das silagens e seus produtos.

Tabela 1. Populações típicas, grupos bacterianos e fúngicos das forragens antes da ensilagem

Grupo	População (ufc/g*)
Bactérias aeróbias totais	> 10.000.000
Bactérias ácido lácticas	10 – 1.000.000
Enterobactérias	1.000 – 1.000.000
Leveduras	1.000 – 100.000
Bolores	1.000 – 100.000
Clostrídios (endósporos)	100 – 1.000
Bacilos (endósporos)	100 – 1.000
Bactérias ácido acéticas	100 – 1.000
Bactérias ácido propiônicas	10 – 1.000

*Unidades formadoras de colônias por grama de forragem

Fonte adaptada de Pahlow et al., (2003)

2.2.3 Fase estável

Após o crescimento ativo das BAL e consequente acúmulo de ácidos, vem a fase estável também conhecida como fase de estocagem. Nesta fase, se o silo estiver vedado corretamente e o pH reduzido a níveis baixos, poucas atividades biológicas irão ocorrer (McDonald, 1991). No entanto, algumas ligações químicas da hemicelulose podem ser quebradas lentamente, liberando alguns açúcares, o quais poderão ser utilizados pelas BAL, diminuindo um pouco mais o pH da silagem.

De acordo com Bolsen et al. (1992), o maior problema enfrentado pelos produtores de silagem durante a fase estável é a entrada de ar nos silos. Quando isso ocorre, devido a erros de manejo, ou por utilizarem materiais de vedação inadequados, os clostrídios e as enterobactérias que sobreviveram ao processo fermentativo através da formação de esporos, e as leveduras ácido tolerantes através da dormência (Drouin & Lafrenière, 2012), irão promover a geração de calor através da respiração microbiana, perda de açúcares, liberação de CO₂ e NH₃, causando elevação do pH e redução no valor nutricional da silagem.

Na fase estável das silagens de gramíneas, as perdas aeróbicas não estão relacionadas somente a entrada de ar, mas também a massa específica. No entanto, quando o silo estiver bem vedado, com material de qualidade e uma elevada massa específicas as perdas são extremamente baixas.

2.2.4 Fase de abertura e/ou retirada

Quando o silo é aberto, o oxigênio tem acesso irrestrito na face do silo, podendo penetrar a uma profundidade de até 1.0 m no painel do silo, dependendo da densidade e forma de descarregamento (Hoing, 1991). Durante esta fase, quando existe algum erro de manejo as perdas de MS e do valor nutritivo podem ser elevadas devido aos microrganismos aeróbicos consumirem os nutrientes da silagem, principalmente açúcares residuais e lactato, causando elevação do pH, redução do valor nutricional e quebra da estabilidade aeróbia da silagem (Borreani & Tabacco, 2010).

A atividade microbiana na fase de abertura do silo pode ser semelhante a que ocorre na fase estável quando existe a infiltração de oxigênio, a única diferença entre elas é a quantidade de oxigênio disponível para os microrganismos. Sendo que na fase de abertura os microrganismos da face do silo podem ter quantidade ilimitada de oxigênio, principalmente quando ocorre algum tipo de erro de manejo, como por exemplo uma baixa densidade específica ou erro na forma de retirada e no tamanho da fatia de corte, permitindo assim que ocorra um rápido crescimento das leveduras e dos microrganismos indesejáveis (Bolsen et al., 1996), porém, quando todas as etapas da produção de silagem são realizadas corretamente, essas perdas são minimizadas ou quase nulas.

Várias são os métodos utilizados para diminuir ou evitar que haja perda na fase de abertura do silo, dentre elas: tamanho da fatia de cortada no painel do silo (ideal que seja de pelo menos 0.30 m em toda face do silo), uma boa densidade específica da silagem ($>250 \text{ kg MS/m}^3$), e a utilização de aditivos que auxiliem na proliferação de microrganismos desejáveis capazes de baixar rapidamente o pH do material na fase de fermentação e de inibir a proliferação das leveduras e outros microrganismos indesejáveis após a abertura do silo (McDonald, 1991, Muck, 2013).

2.3 Aditivos microbianos para silagem

Quando se fala em conservação de forragens, o uso de aditivos microbianos é um assunto bastante pesquisado, e que vem sendo utilizado no mundo todo. Segundo Schmidt et

al. (2014) existem inúmeras substâncias, orgânicas ou inorgânicas, bióticas ou abióticas, que têm sido estudadas com o objetivo de modificar o processo fermentativo das silagens, para diminuir ao máximo as perdas.

O aditivo ideal a ser utilizado no momento da ensilagem é aquele que proporciona segurança e facilidade no manuseio, que contribui para redução de perdas de matéria seca, propicia a melhoria da qualidade nas silagens, restringe a fermentação secundária e que melhora o tempo de estabilidade aeróbia (Henderson, 1993). Schmidt et al. (2011) complementam que a escolha de um aditivo deve ser baseada em aspectos básicos e importantes, como por exemplo, a recuperação de MS, estabilidade aeróbia após abertura dos silos, e a relação custo/benefício. Muck e Kung (1997), avaliaram 230 trabalhos publicados entre os anos de 1990 a 1995, com silagens de gramíneas tratadas versus não tratadas com aditivos microbianos. Os autores encontraram uma redução do pH e melhora na fermentação em aproximadamente 60% dos casos, contudo concluíram que os aditivos foram mais efetivos em silagens de capim e alfafa, porém em silagens de milho houve resposta positiva em menos da metade dos casos e em silagens de cereais de inverno em um terço dos casos.

As BAL durante o processo fermentativo das silagens exercem papel fundamental para manter uma boa qualidade do material, e sua população e constituídas de vários gêneros (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Leuconostoc*) (Pahlow et al., 2003), sendo que todos produzem ácido láctico como seu principal produto a partir da fermentação de açúcares, mas outros produtos, como ácido acético, etanol e CO₂ também são produzidos.

Segundo Pahlow et al. (2003), Holzer et al. (2003), e Muck (2010), as BAL foram inicialmente agrupadas em homofermentativas e heterofermentativas, sendo as homofermentativas capazes de produzir 2 moles de ácido láctico com 1 mol de glicose, e as heterofermentativas produzem 1 mol de ácido láctico, 1 mol de ácido acético, ou 1 mol de etanol, e CO₂ com 1 mol de glicose. Porém essas duas categorias foram subdivididas, criando 3 grupos de bactérias ácido lácticas: as homofermentativas obrigatórias, as quais fermentam hexoses mas não fermentam pentoses por não possuírem a enzima fosfoquetolase; as heterofermentativas facultativas que fermentam hexoses como as homofermentativas obrigatórias, além de fermentar pentoses pois possuem tanto a enzima aldose como a fosfoquetolase; e as heterofermentativas obrigatórias que fermentam hexoses em outros produtos além do ácido láctico como podemos observar na Tabela 2.

Tabela 2. Rotas da fermentação predominante das bactérias ácido lácticas

Grupo	Fermentação
Homofermentativas obrigatórias e Heterofermentativas facultativas	1 Açúcar – 6C → 2 ácidos lácticos
Heterofermentativas facultativas	1 Açúcar – 5C → 1 ácido láctico + 1 ácido acético
Heterofermentativas obrigatórias	1 Açúcar – 6C → 1 ácido láctico + 1 ácido acético + CO ₂
	1 Açúcar – 6C → 1 ácido láctico + 1 etanol + CO ₂
	1 Açúcar – 5C → 1 ácido láctico + 1 ácido acético
	1 Ácido láctico → 1 ácidos acético + 1,2 propanodiol + CO ₂

Fonte adaptada de Muck, (2010).

Dentre as inúmeras espécies de BAL utilizadas como aditivos nas silagens convencionas, a *Lactobacillus plantarum* classificada como heterofermentativa facultativa (Kung Jr, 2009) é uma das espécies que se destaca, pois além de ser uma das espécies pioneiras nas pesquisas com aditivos microbianos, apresenta características importantes como, crescimento vigoroso, com habilidades para competir e dominar outros microrganismos em poucos dias em ambientes anaeróbios, causando uma queda rápida no pH do material ensilado, e é capaz de crescer em substratos com baixa concentração de umidade (Muck, 2010).

Vários trabalhos avaliando quais as vantagens as *L. plantarum* pode proporcionar durante o processo fermentativo em silagens de leguminosas, gramíneas perenes consorciadas com leguminosas, sorgo, milho, trigo (Ely et al., 1981; Rooke, et al., 1990; Whiter e Kung Jr, 2001), demonstraram respostas satisfatórias. No entanto, para as silagens de RMT poucos são os trabalhos publicados. E o que se tem de conhecimento até momento, e que apenas um trabalho foi publicado avaliando a utilização das *L. plantarum* consorciado com enzimas fibróticas no processo fermentativo das silagens de RMT, e os autores concluíram que o consórcio entre *L. plantarum* e as enzimas fibrolíticas melhoram a qualidade fermentativa da silagem de RMT, e aumentam recuperação da matéria seca (Liu et al., 2016). Contudo, mais

trabalhos avaliando a utilização deste aditivo microbiano se faz necessário principalmente com silagens de RMT.

Segundo Schmidt et al. (2011) silagens com maiores teores de carboidratos residuais, como é o caso da cana-de-açúcar, tendem a ter uma menor estabilidade aeróbia, aumentando a degradação da MS após a abertura dos silos. E isso pode ser ainda mais agravado quando a população de leveduras é elevada (McDonald et al. 1991). De acordo com Nishino et al. (2007), a sobrevivência e o crescimento das leveduras podem ser maiores quando a silagem é preparada com forragens mais secas ou culturas de cereais com alto teor de açúcar, pois as leveduras são tolerantes a baixa atividade de água, e não consomem açúcares e ácidos orgânicos quando expostas ao ar.

Várias espécies de BAL estão sendo testadas para melhorar a estabilidade aeróbia da silagem. Contudo, estudos demonstraram que as *Lactobacillus buchneri*, heterofermentativa obrigatória estão sendo efetivas em elevar a estabilidade em aerobiose pois conseguem degradar o ácido láctico em ácido acético e 1,2-propanodiol em condições anaeróbias (Oude Elferink et al., 2001; Nishino, 2011), com isso, em silagens inoculadas com *L. buchneri*, na grande maioria das vezes apresentam maiores concentrações do ácido acético, responsável pela inibição do crescimento das leveduras após a abertura do silo (Danner et al., 2003), através de sua entrada na célula na forma dissociada via transporte passivo. De acordo com Davidson (1997), o ácido acético dentro da célula é dissociado, e essa reação libera ions de H^+ , o que reduz o pH intracelular. Para manter uma acidez constante, o microrganismo deve eliminar os ions de H^+ , perdendo energia neste processo, retardando seu crescimento e podendo levar a morte.

De acordo com Muck (2013), a deterioração aeróbia na silagem promove um enorme impacto econômico nas fazendas, pois silagens emboloradas com fungos e leveduras além de reduzir a palatabilidade e a qualidade, afetam negativamente o desempenho produtivo dos animais. Nishino e Hattori (2007), isolando *L. buchneri* como a espécie predominante em silagem de alfafa confirmaram que o aditivo *L. buchneri* pode suprimir a deterioração aeróbica das silagens de milho, azevém, festuca e de RMT.

Trabalhos avaliando o uso de *L. buchneri* nas silagens de RMT apresentaram respostas positivas em aumentar o número de horas para que haja a quebra da estabilidade aeróbia (Nishino et al., 2004; Xu et al. 2007; Wang e Nishino, 2009). Hu et al. (2015), corroborando com os demais trabalhos afirmam que os aditivos *L. buchneri* e *Pediococcus acidilactici* na RMT ensilada com bagaço de pêssego, podem desempenhar papel importante

na estabilidade aeróbia. Contudo, estudos mais aprofundados avaliando *L. buchneri* nas silagens de RMT são necessários.

2.4 Estabilidade em aerobiose

A exposição do material ensilado ao oxigênio atmosférico no momento da abertura do silo promove o desenvolvimento de microrganismos oportunistas, que iniciam sua atividade metabólica e utilizam produtos da fermentação como substrato para produzir calor (Jobim et al., 2007). Essa produção de calor da silagem após a sua exposição em aerobiose é um indicativo que o processo de deterioração aeróbia está se iniciando e irão ocorrer perdas de matéria seca por oxidação do material (Zopollatto et al., 2009).

Alguns coprodutos das indústrias de alimentos e bebidas têm sido ensilados com o objetivo de preservar seus nutrientes. No entanto, muitas vezes é difícil de conseguir uma fermentação adequada, principalmente quando são ensilados sozinhos, devido à alta umidade e à falta de carboidratos solúveis (Nishino et al., 2007). Além disso, a produção de ácido butírico pode aumentar após um armazenamento prolongado (Imai, 2001), e ocorrer a deterioração do material quando a silagem é exposta ao ar (Schneider et al., 1995; Niwa, 2001; Nishino et al., 2003b).

A prática de se misturar coprodutos úmidos, com alimentos secos para se obter teores de matéria seca desejados é importante na formulação e na ensilagem da RMT, pois auxilia no processo fermentativo, e na qualidade do material ensilado, podendo alterar o odor e o sabor dos coprodutos (Cao et al., 2011), além de uma maior estabilidade aeróbia (Wang e Nishino 2008). De acordo com Nishino et al. (2003a), ao ensilar somente coprodutos de cervejaria, a deterioração aeróbia iniciou com menos de 2 dias de abertura no silo, porém, quando os coprodutos de cervejaria foram misturados na RMT e depois ensilado, a deterioração aeróbia se iniciou após o 7 dia de abertura.

A estabilidade aeróbia, segundo Kung Jr. et al. (2000) é o tempo necessário para que a temperatura da silagem ultrapasse a temperatura ambiente em 2 °C, ou seja, representa a resistência da silagem ao aquecimento, podendo ser caracterizada como a fase de “start” da multiplicação dos microrganismos aeróbios no painel do silo. Siqueira et al. (2005) afirmam que para se determinar a estabilidade de uma silagem em ambiente aeróbio, é necessário avaliar as temperaturas acumuladas e a temperatura máxima, além do tempo para alcançar a máxima temperatura.

São vários os fatores que podem afetar o tempo de estabilidade aeróbia nas silagens, dentre eles pH, teores de etanol, ácido acético, ácido láctico, carboidratos solúveis residuais e a população de fungos filamentosos e leveduras. Segundo Nishino et al. (2004), e Nishino e Hattori (2007), a quebra da estabilidade aeróbia da silagem da RMT após a abertura do silo ocorre mais rapidamente quando o material possui populações de leveduras acima de 10^6 ufc/g de RMT fresca. McDonald et al. (1991) comentam que em silagens de gramíneas com uma populações de leveduras de 10^5 ufc/g de forragem fresca, é um forte indicativo que irá ocorrer deteriorações na presença de ar.

Na silagem de RMT a estabilidade aeróbia tende a ser maior, quando comparadas com silagens de gramíneas (Nishino et al., 2004; Xu et al., 2010). O por que isso acontece, ainda não está bem esclarecido. Hu et al. (2015) comentam que a maioria dos estudos avaliando a estabilidade aeróbia, concentraram-se na inibição de leveduras e de bactérias nocivas em ácidos orgânicos e acabam ignorado o antagonismo causado por microrganismos bactericidas, o qual pode auxiliar para aumentar a estabilidade aeróbia, no entanto, a razão correta pela qual isso ocorre ainda não está comprovada cientificamente, e mais estudos sobre o tema devem ser realizados com as silagens de RMT.

Para as silagens de gramíneas, o processo fermentativo, a utilização de aditivos microbianos, bem como erros de manejo durante sua produção são assuntos bem estudados com respostas comprovadas cientificamente, porém para as silagem de RMT, compostas por vários ingredientes, com teor de MS mais elevado e com a população epifítica inicial diferente das silagens tradicionais de gramíneas, essas informação ainda são escassas e precisam ser melhor pesquisadas principalmente em nosso país.

2.5 REFERÊNCIAS

ABDOLLAHZADEH, F.; PIRMOHAMMADI, R.; FATEHI, F. BERNOUSI, I. The effect of feeding ensiled mixed tomato and apple pomace on performance of Holstein dairy cows. Slovak. **Journal of Animal Science**, v.1, p.31-35, 2010.

AMARAL, R. C.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. et al. Estabilidade aeróbia de silagens do capim-marandu submetidas a diferentes intensidades de compactação na ensilagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.977-983, 2008.

ANDRADE, I. V. O.; PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P.; et al., Perdas, características fermentativas e valor nutritivo da silagem de capim elefante contendo subprodutos agrícolas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.2578-2588, 2010.

AZEVÊDO, J. A. G.; VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. et al. Consumo, digestibilidade total, produção de proteína microbiana e balanço de nitrogênio em dietas com

- subprodutos de frutas para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1052-1060, 2011.
- BOLSEN, K. K.; LIN, C.; BRENT, B. E. et al. Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silage. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 3066 – 3082, 1992.
- BOLSEN, K. K., ASHBELL, G., WEINBERG, Z. G. Silagem fermentation and silage additives – Review -. **AJAS**, v. 9, p. 483 – 493, 1996.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.6, p.2620-2629, 2010.
- CAO, Y.; TAKAHASHI, T.; Horiguchi, K. Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. **Animal Feed Science and Technology**. v.151, p.1-11, 2009.
- CAO, Y.; CAI, Y.; HIRAKUBO, T. et al. Fermentation characteristics and microorganism composition of total mixed ration silage with local food by-products in different seasons. **Animal Science Journal**. v. 82, p. 259–266, 2011.
- CHEN, L.; GUO, G.; YU, C. et al. The effects of replacement of whole-plant corn with oat and common vetch on the fermentation quality, chemical composition and aerobic stability of total mixed ration silage in Tibet. **Animal Science Journal**, v. 86, p. 69–76, 2015.
- DA SILVA, M. S.; TREMBLAY, G. A.; BÉLANGER, G.; et al. Forage energy to protein ratio of several legume–grass complex mixtures. **Animal Feed Science and Technology**, v. 188, p.17–27, 2014.
- DANIEL, J. L. P. Contribuição da fração volátil no valor nutricional de silagens. 2011. F.162. **Tese** (Doutor em Ciência Animal e Pastagens). Piracicaba. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- DANNER, H., HOLZER, M., MAYRHUBER, E., BRAUN, R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Appl Environ Microbiol**. v.69, p.562–567, 2003.
- DROUIN, P.; LAFRENIERE, C. Clostridial spores in animal feeds and milk. In: CHAIYABUTR, N. (Ed.) **Milk production: an up-to-date overview of animal nutrition, management and health**. Rijeka: Intech, p.375-394, 2012.
- DAVIDSON, P. M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTEVILLE, T. J. (eds) **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington: ASM Press, p. 520-556, 1997.
- DUNIÈRE, L.; SINDOU, J.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; CHEVALLIER, I.; THÉVENOT-SERGEANTE, D. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. **Animal Feed Science and Technology**, v. 182, p. 1– 15, 2013.
- ELY, L. O.; SUDWEEKS, E. M.; MOON, N, J. Inoculation with *Lactobacillus plantarum* of alfalfa, corn, sorghum, and wheat silages. **Journal Dairy Science**, 64:2378—2387, 1981
- FREITAS, L. S.; SILVA, J. H. S.; SEGABINAZZI, L. R. ET AL. Substituição da silagem de milho por silagem de girassol na dieta de novilhos em confinamento: comportamento ingestivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.225-232, 2010.

- GERON, L. J. V.; ZEOULA, L. M.; ERKEL, J. A. et al. Coeficiente de digestibilidade e características ruminais de bovinos alimentados com rações contendo resíduo de cervejaria fermentado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1685-1695, 2008.
- HENDERSON N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v. 45, p. 35-56, 1993.
- HOING, H. Reducing losses during storage and unloading of silage. In: EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION FORAGE CONSERVATION TOWARDS 2000 CONFERENCE, 1991, Braunschweig. **Proceedings...** Braunschweig: [s.n.], 1991. p.116-128.
- HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; DANNER, H.; BRAUN, R. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 21, p. 282-287, 2003.
- HU, X.; HAO, W.; WANG, H.; et al., Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace. **Asian Australasian Journal of Animal Science**. v. 28, p. 502 – 510, 2015.
- IMAI A. Silage making and utilization of high moisture by-products. 1. Significance of silage making for high moisture by-products. **Grassland Science**. v.47, p.307-310, 2001.
- JOBIM, C. C.; GONÇALVES, G. D. Microbiologia de forragens conservadas. In: RIS, R. A.; Bernardes, T. F.; Siqueira, G. R.; Moreira, A. L. **Volumosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens**. Jaboticabal: FUNESP, p. 51-70, 2003.
- JOBIM, C.C.; NUSSIO, L. G.; REIS, A. R.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.101-119, 2007.
- KUNG JR., L.; GRIEVE, D.B.; THOMAS, J.W.; HUBER, J.T. Added ammonia or microbial inoculate for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percent of dry matter. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.299-306, 1984.
- KUNG JR. L.; ROBINSON JR., RANJIT N. K., CHEN J. H., GOLT C. M., PESEK J. D. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1479-1486, 2000.
- KUNG, L. JR, RANJIT, N.K. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silages. **Journal of Dairy Science**. v.84, p.1149-1155, 2001.
- KUNG, Jr. L. International Symposium on Forage Quality and Conservation. **Proceeding**. Piracicaba, FEALQ, 2009.
- LIN, C. K. K., BOLSEN, B. E., BRENT, R. A., HART, J. T., et al. Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. **Journal Dairy Science**. v. 75, p. 2484 – 2494, 1992.
- LIU, Q., LI, X., SEARE, T. D., ZHANG J., SHAO, T. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and *in vitro* digestibility of total mixed rations silage including rape straw. **Journal of Integrative Agriculture** 15: 2087 – 2097, 2016.
- MARTINS, A. S.; PRADO, I. N.; ZEOULA, L. M. et al. Digestibilidade aparente de dietas contendo milho ou casca de mandioca como fonte energética e farelo de algodão ou levedura como fonte proteica em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.269-277, 2000.

- MCDONALD, P. **Silage fermentation**. In: Occ. Symp. N° 11. Brit. Grassl. Soc. Brighton, UK, pp. 161-174, 1980.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. 2^{ed}. Marlow: halcombe Publications, 340p. 1991.
- MIYAJI, M.; MATSUYAMA, H.; HOSODA, K.; NONAKA, K. Milk production, nutrient digestibility and nitrogen balance in lactating cows fed total mixed ration silages containing steam-flaked brown rice as substitute for steam-flaked corn, and wet food by-products. **Animal Science Journal**. v. 84, p.483-488, 2013.
- MIYAJI, M. and NONAKAT, K. Effects of altering total mixed ration conservation method when feeding dry-rolled versus steam-flaked hulled rice on lactation and digestion in dairy cows. **Journal Dairy Science**. v.101, p.1–10, 2018.
- MUCK, R. E. The role of silage additives in making high quality silage. In. National Silage Produce Conference, Ithaca, 1993. **Proceeding** Ithaca: Northeast Regional Agriculture Engineering Service, 1993, p.106 – 116.
- MUCK, R.E.; KUNG JR., L. Effects of silage additives on ensiling. In: **Silage: field to feed bunk**. Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1997. p.187-199.
- MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 183 – 19, 2010. Suplemento.
- MUCK, R. E. Recent advances in the silage microbiology. **Agriculture and Food Science**. 22:3 – 15, 2013,
- NISHINO, N., HARADA, H., SAKAGUCHI, E., Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. **Journal of Science**. v. 83, p.557-563, 2003a.
- NISHINO, N., YOSHIDA, M., SHIOTA, H., SAKAGUCHI, E., Accumulation of 1,2-propanediol and enhancement of aerobic stability in whole crop maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. **Journal. Appl. Microbiologic**. V.94, p.800–807, 2003b.
- NISHINO, N., WADA, H., YOSHIDA, M., SHIOTA, H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.2563–2570, 2004.
- NISHINO, N. Ensiled total mixed ration. A non-conventional silage supporting animal production in Japan. p, 193–197 in Proc. 2nd China-Japan-Korea Sym. **Grassland Agriculture Animal**. Production, Chinese Soc. Grassland. Science., Lanzhou, China. 2006.
- NISHINO, N., HATTORI, H. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage inoculated with and without homofermentative or heterofermentative lactic acid bacteria. **Journal Science Food and Agriculture**. v.87, p.2420–2426, 2007.
- NISHINO, N., HATTORI, H., WADA, H., TOUNO, E. Biogenic amine production in grass, maize and total mixed ration silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Applied Microbiology**. v.103, p.325–332, 2007
- NISHINO, N. **Aerobic stability and instability of silages caused by bacteria**. In Proceedings of the II International symposium on forage quality and conservation. Piracicaba, 2011.

- NIWA, Y. Silage making and utilization of high-moisture by-products. Making silage from tofu cake and utilization. **Grassland Science**. v.47, p.323–326, 2001.
- OUDE ELFERINK, S.J.W.H., KROONEMAN, J., GOTTSCHAL, J.C., SPOELSTRA, S.F., FABER, F. AND DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Appl Environ Microbiol**. v.67, p.125–132, 2001.
- PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p.31-93, 2003.
- REGO, F. C. A.; LUDOVICO, A.; SILVA, L. C.; et al., Perfil fermentativo, composição bromatológica e perdas em silagem de bagaço de laranja com diferentes inoculantes microbianos. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 33, p. 3411-3420, 2012.
- RESTELATTO, R.; PAVINATO, P. S.; SARTOR, L. R.; PAIXÃO, S. J. Production and nutritional value of sorghum and black oat forages under nitrogen fertilization. **Grass and Forage Science**, v. 69, p.693–704, 2013
- ROOKE, J. A.; BORMAN, A. J.; ARMSTRONG, D. G. The effect of inoculation with *Lactobacillus plantarum* on fermentation in laboratory silos of herbage low in water-soluble carbohydrate. **Crass and Forage Science**, 45:143-152, 1990.
- SCHMIDT, P.; ROSSI JUNIOR, P.; JUNGES, D. et al., Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.543-549, 2011.
- SCHMIDT, P.; SOUZA, C.M.; BACH, B.C. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar? In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.; BANKUTI, F.I (eds.), SIMPÓSIO: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 5^{ed.}, Maringá, 2014. Anais... **Maringá: UEM**, 2014. p.243-264.
- SCHNEIDER, R.M., HARRISON, J.H., LONEY, K.A., The effects of bacterial inoculants, beet pulp, and propionic acid on ensiled wet brewer's grains. **Journal of Dairy Science**. v.78, p.1096–1105, 1995.
- SEPPÄLÄ, A.; HEIKKILÄ, T.; MÄKI, M.; MIETTINEN, H.; RINNE, M. Controlling aerobic stability of grass silage-based total mixed rations. **Animal Feed Science and Technology** v. 179, p. 54-60, 2012.
- SILVA, L. M.; OLIVEIRA, C. H. A.; RODRIGUES, F.V. et al. Desempenho e características da carcaça de cordeiros alimentados com bagaço de caju. **Arquivos de Zootecnia**. v.60, p. 777-786, 2011.
- SIQUEIRA G. R., BERNARDES T. F. and REIS R. A. Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção (Aerobic instability of silages: effects and possible prevention). In: REIS R. A., SIQUEIRA G. R. and BERTIPAGLIA L. M. A. (Eds.). **Volúmosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal, SP, Brazil: pp.25-60. Jaboticabal, Brazil: FUNEP, 2005.
- SOUZA, A. L.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Casca de café em dietas de vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.2496-2504, 2005.

- SPOELSTRA, S. F., HINDLE, V. A. Influence of wilting on chemical and microbial parameters of grass relevant to ensiling. **Journal Agriculture Science**, v. 37, p. 355 – 364, 1989.
- UPADHYAYA, H. D.; SHARMA, S.; RAMULU, B.; et al. Variation for qualitative and quantitative traits and identification of trait-specific sources in new sorghum germplasm. **Crop & Pasture Science**. v.61, p.609-618, 2010.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583–3597, 1991.
- WANG, F., NISHINO, N., Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. **Journal of Science Food Agriculture**. v.88, p.133–140, 2008.
- WANG F, NISHINO N. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewers grains preserved as a silage. **Animal Feed Science and Technology**, 149:265–274, 2009.
- WANG, R. R.; WANG, H. L.; LIU, X. AND XU, C. C. Effects of different additives on fermentation characteristics and protein degradation of green tea grounds silage. **Asian Australians Journal of Animal Science**, v. 24, p. 616-622, 2011.
- WANG, C., NISHINO, N., Effects of storage temperature and ensiling period on fermentation products, aerobic stability and microbial communities of total mixed ration silage. **Journal of Applied Microbiology** 114:1687-1695, 2013.
- WEINBERG, Z.G.; CHEN, Y.; MIRON, D. et al., Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film – A commercial scale experiment. **Animal Feed Science and Technology** v.164, p. 125-129, 2011.
- WHITER, A. G.; KUNG JR, L. The Effect of a Dry or Liquid Application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the Fermentation of Alfalfa Silage. **Journal Dairy Science**, 84:2195–2202, 2001.
- XU CC, CAI Y, MORIYA N, OGAWA M. Nutritive value for ruminants of green tea grounds as a replacement of brewers’ grains in totally mixed ration silage. **Animal Feed Science and Technology** v.138, p.228-238, 2007.
- XU, C., Y. CAI, J. ZHANG, H. MATSUYAMA, W. Feeding value of total mixed ration silage with spent mushroom substrate. **Animal Science Journal**. v.81, p.194-198, 2010.
- YUAN, X.; GUO, G.; WEN, A. et al. The effect of different additives on the fermentation quality, *in vitro* digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. **Animal Feed Science and Technology**. v. 207, p.41–50, 2015.
- ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G.; Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, p.170-189, 2009.

3.0 COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PERDAS FERMENTATIVAS, PERÍODOS DE ENSILAGEM E CONTAGENS MICROBIANAS DAS SILAGENS DE RAÇÃO EM MISTURA TOTAL INOCULADAS COM DIFERENTES ESPÉCIES DE *LACTOBACILLUS*

(Artigo formatado segundo normas do Journal of Dairy Science)

RESUMO:

Os inoculantes microbianos são utilizados com o objetivo de manter o valor nutritivo das forragens durante o período de armazenamento na forma de silagem e prolongar a estabilidade aeróbia após a abertura dos silos. O objetivo do nosso trabalho foi avaliar os efeitos dos inoculantes microbianos *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri* nos parâmetros fermentativos, perdas durante o período de armazenamento e na estabilidade aeróbia da silagem de RMT, ensilada por 15 e 60 dias. A RMT foi formulada para vacas leiteiras produzindo 25 kg de leite/dia e ensiladas em silos experimentais equipados com aparatos para determinação das perdas gravimétricas de MS, gases e efluentes. Após a abertura dos silos, foram avaliadas as alterações químico-bromatológicas, contagem microbiana, perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia das silagens. Os tratamentos foram: tratamento controle (sem aditivos) *Lactobacillus plantarum* (10^5 ufc g^{-1} RMT fresca), *Lactobacillus buchneri* (10^5 ufc g^{-1} RMT fresca), sob dois períodos de abertura (15 e 60 dias). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado 3 x 2, com 5 repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey e T e a diferença estatística foi significativa quando $P \leq 0,05$. A utilização dos inoculantes reduziu o teor de FDN e a concentração de ácido butírico nas silagem de RMT com período de abertura de 15 dias, porém o *L. plantarum* apresentou o pior tempo (50 h) para a quebra da estabilidade aeróbia e as maiores perdas de MS (23,3% MS) após a abertura dos silos. O período de abertura de 60 dias influenciou no aumento das bactérias ácido láctica, estabilidade aeróbia, nitrogênio amoniacal, e na concentração do ácido láctico e ácido acético, e nos menores valores para a contagem de leveduras e perdas fermentativas quando comparado com o período de abertura de 15 dias. O tratamento com o *L. plantarum* foi o mais eficiente em diminuir o pH no período de abertura de 60 dias. Os tratamentos não tiveram efeito sobre os teores de MS, PB, FDA, digestibilidade *in vitro* da MS, cinzas, EE e amido. Conclui-se que os inoculantes microbianos *L. plantarum* e *L. buchneri* não melhoraram o perfil fermentativo, não prolongaram a estabilidade aeróbia e não reduziram as perdas, e o período de abertura de 60 dias é melhor que o período de abertura de 15 dias para as silagens de RMT.

Palavras chave:

Aditivos heterofermentativos, bactérias ácido lácticas, compostos voláteis, leveduras, períodos de abertura, RMT.

3.1 INTRODUÇÃO

O uso de inoculantes microbianos em silagens de gramíneas (milho, sorgo, cana-de-açúcar, etc.) tem como objetivo aumentar rapidamente a proliferação dos microrganismos desejáveis e prolongar a estabilidade aeróbica (Windle e Kung, 2016). Segundo Muck (2013), as bactérias ácido láctica (BAL) são o principal grupo de microrganismos que atuam no processo de fermentação das forragens e têm a capacidade de produzir o ácido láctico como seu principal produto.

Dentre os seis gêneros de BAL envolvidos no processo fermentativo das forragem (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, e *Leuconostoc*), as *Lactobacillus* vêm se mostrando eficientes em dominar a população epifítica do material ensilado, através da produção de ácido láctico, da rápida diminuição nos valores do pH do material ensilado (Muck, 2010, Dunière et al., 2013, Liu et al., 2016). O *L. plantarum* é utilizado como aditivo microbiano em silagens de gramíneas e é classificado como heterofermentativo facultativo (Kung Jr, 2009, Muck et al., 2018). Foi um dos pioneiros, pois apresenta crescimento vigoroso, tem a capacidade de competir e dominar outros microrganismos em poucos dias, causando uma rápida diminuição no pH do material ensilado, além de poder crescer em ambientes com baixo teor de umidade (Muck, 2010). O *L. buchneri* é um aditivo microbiano heterofermentativo obrigatório amplamente utilizado em silagens, pois possui a capacidade de converter ácido láctico em ácido acético e 1,2-propanodiol na ausência de O₂, sendo responsável pela inibição de fungos e leveduras (Oude Elferink et al., 2001, Muck et al., 2018).

As BAL homo e heterofermentativas são amplamente utilizados em silagens de gramíneas (Zopollatto et al., 2009; Oliveira et al., 2017), no entanto, estudos avaliando seu uso em silagens de RMT onde o volumoso, cereais, minerais, vitaminas e aditivos são misturados, ainda são escassos. Liu et al., (2016) ao avaliar os efeitos do inoculante

microbiano *L. plantarum* e das enzimas fibrolíticas sobre a qualidade fermentativa das silagens de RMT, ensiladas por 60 dias, concluíram que a combinação entre os inoculantes apresenta um menor valor de pH e uma maior concentração de ácido láctico, melhorando a qualidade fermentativa das silagens de RMT. Nishino et al. (2004), ao avaliarem a importância do uso do *L. buchneri* na estabilidade aeróbia da silagem de RMT ensilada por 10 e 60 dias, concluíram que a inoculação da silagem de RMT com o aditivo *L. buchneri* pode ser uma maneira promissora de inibir a deterioração aeróbica da silagem e diminuir as populações de leveduras quando armazenadas por 60 dias.

Nossa hipótese é que o uso do aditivo *L. plantarum* melhora o perfil fermentativo da silagem de RMT ensilada por 15 dias, e o aditivo *L. buchneri* aumenta a estabilidade aeróbia da silagem de RMT ensilada por 60 dias. Nossos objetivos foram avaliar os efeitos dos inoculantes microbianos *L. plantarum* e *L. buchneri* nos parâmetros fermentativos, perdas durante o armazenamento, contagens microbianas, bem como na estabilidade aeróbia das silagens de RMT, ensiladas por 15 ou 60 dias.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Composição das dietas e dos tratamentos

A RMT foi formulada de acordo com o NRC (2001) para vacas em lactação produzirem 25 kg de leite por dia, e os ingredientes estão apresentados na Tabela 1, sendo que a silagem de milho e o pré-secado de azevém já estavam fermentados sem quaisquer aditivos antes de usar em nosso estudo, apenas adicionamos à dieta. A composição químico-bromatológica, e a contagens microbianas da RMT antes da ensilagem estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1. Ingredientes da RMT usada para ensilagem

Ingredientes	RMT (% na MS)
Silagem de milho	44,9
Pré-secado de azevém	19,5
Fubá de milho	13,6
Farelo de Soja (46%)	9,34
Farelo de glúten de milho (<i>Promil</i> [®]) ¹	9,27
Bicarbonato de sódio	1,03
Mistura mineral (<i>Núcleo Melk</i> [®]) ²	1,03
Sal branco	0,51
Ureia	0,41
Calcário calcítico	0,41

¹ Proteína Bruta (24.4% MS), Fibra bruta (9.4% MS), Amido (8.9% MS), Cinzas (7% MS)

² Enxofre (0.7% MS), Sódio (0.04% MS), Cloro (0.35% MS), Ferro (144 ppm), Manganês (23 ppm), Zinco (85 ppm), Cobre (7.5 ppm), Molibdênio (1.7 ppm), DCAD (5.8 meq/100gdm), NDT (77% MS), CNF (19% MS).

Tabela 2. Composição químico-bromatológica e contagem microbiana das RMT antes da ensilagem

Itens	Controle \pm DP ⁴	<i>L. buchneri</i> \pm DP ⁴	<i>L. plantarum</i> \pm DP ⁴
pH	4,76 \pm 0,03	4,82 \pm 0,08	4,87 \pm 0,08
<i>Composição bromatológica (%)</i>			
MS	41,9 \pm 0,02	41,8 \pm 0,05	41,7 \pm 0,17
PB	15,5 \pm 0,15	15,6 \pm 0,17	16,0 \pm 0,26
FDN	38,1 \pm 0,46	37,6 \pm 0,22	37,9 \pm 0,27
FDA	19,1 \pm 0,56	19,0 \pm 0,64	19,1 \pm 0,27
DIVMS ¹	82,6 \pm 0,85	84,0 \pm 0,36	83,9 \pm 1,01
Amido	31,5 \pm 0,19	31,0 \pm 0,24	30,7 \pm 0,29
EE	2,9 \pm 0,03	2,9 \pm 0,08	2,9 \pm 0,07
Cinzas	7,5 \pm 0,03	7,7 \pm 0,23	7,5 \pm 0,18
N-NH ₃ ²	15,7 \pm 0,06	15,6 \pm 0,31	15,4 \pm 0,40
<i>Contagem microbiana (log ufc g)</i>			
BAL ³	5,3 \pm 0,08	5,5 \pm 0,22	5,6 \pm 0,10
Leveduras	4,9 \pm 0,17	5,0 \pm 0,03	5,2 \pm 0,04
Bolores	4,0 \pm 0,10	3,8 \pm 0,35	3,9 \pm 0,12

¹ Digestibilidade *in vitro* da MS; ² Nitrogênio amoniacal está representado em % do N total; ³ Bactérias ácido lácticas ⁴ Desvio padrão.

A mistura dos ingredientes foi realizada em um misturador vertical estacionário (Trioliet modelo 16000L) por 7 min, em seguida foi retirado 100 kg da RMT para cada tratamento e distribuído com o auxílio de baldes esterilizados sobre lonas plástica para

aplicação dos aditivos e posterior ensilagem. Foram avaliados três tratamentos com cinco repetições: controle (sem aditivos) ou inoculadas com aditivos baseados em *L. plantarum* ou *L. buchneri*.

Cada aditivo foi diluído em 500 mL de água deionizada e pulverizado manualmente nos 100 kg RMT colocados sobre a lona plástico. No tratamento controle, 500 mL de água deionizada também foram aplicados. As doses dos aditivos *L. plantarum* e *L. buchneri* foram de 100.000 unidades formadoras de colônias (ufc) viáveis por grama de forragem fresca (10^5 ufc/g) em cada tratamento, segundo as recomendações de Weinberg e Muck (1996) e Kleinschmit e Kung, Jr. (2006) respectivamente. A montagem de cada tratamento ocorreu em local separado, usando-se lonas, pulverizadores manuais, luvas e botas descartáveis, específicos para cada tratamento com objetivo de reduzir riscos de contaminação cruzada. Antes de serem utilizados, os baldes e as ferramentas foram sanitizados com álcool 70%, e os três tratamentos foram montados simultaneamente.

Imediatamente antes da ensilagem, uma subamostra de 0,3 kg foi coletada para análise de pH e determinação do teor de MS, e da composição químico-bromatológica e microbiana.

3.2.2 Processo de ensilagem e coleta das amostras

A ensilagem da RMT foi realizada em silos experimentais de 8,8 L, usando massa específica de 350 kg MS/m³. Os silos foram equipados com aparatos para determinação das perdas de MS, gases e efluentes (Jobim et al., 2007), além da adição do sistema descrito por Souza (2015) para a determinação direta da produção de gases.

Após 15 e 60 dias de armazenamento, os silos foram pesados, abertos e a silagem de RMT removida, homogeneizada e amostrada. Uma subamostra de 4 kg de cada silo foi utilizada para avaliar a estabilidade aeróbia seguindo a metodologia descrita por Kung e Ranjit (2001), através da medição diária do pH com medidor de pH digital (PG 1400, Gehaka

- Brasil), e a temperatura, que foi coletada a cada 30 minutos durante nove dias através de registradores de dados (dataloggers USB-EL1 - Lascar Inc.) inseridos no centro da subamostra. A quebra da estabilidade em aerobiose foi estabelecida quando a temperatura do material se elevou em 2 °C em relação a temperatura ambiente. Outras duas subamostras de cada silo foram coletadas no momento da abertura para a determinação do teor de MS (método número 934.01; AOAC, 2012), composição bromatológica, e pH de acordo com Kung Jr et al. (2000).

3.2.3 Análises químico-bromatológicas e microbianas

As amostras coletadas antes da ensilagem e após os períodos de abertura foram secas em estufa com ventilação forçada a uma temperatura de 55 °C por 72 h. Em seguida, as amostras foram moídas individualmente em moinho tipo Willey utilizando peneira de malha de 1 mm para determinação da PB pelo método DUMAS (FP-528, Leco, EUA) (Wiles et al., 1998), cinzas (método número 924.05; AOAC, 2012), EE (método número 920.39; AOAC, 2012); FDN tratada com alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio e o FDA pela análise sequencial, segundo Mertens (2002), modificado para o Ankom A200 “Fiber Analyzer”.

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi realizada segundo Tilley e Terry (1963) e adaptada à ANKOM (Holden 1999), e a correção de cinzas foi obtida após 4 h na estufa a 600 °C. O amido foi analisado seguindo o procedimento enzimático de Demiate et al., (2001).

A análise do nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi determinada por calorimetria seguindo o procedimento descrito por Chaney e Marbach (1962) adaptado para amostras de silagem. As contagens microbianas foram realizadas em extrato aquoso seguindo o método descrito por Kung Jr et al. (1984). O extrato aquoso usado para o plaqueamento foi preparado em sacos plástico estéreis contendo 25 g de amostra e 225 mL de solução ringer (25%) (Kung Jr et al., 1984). As soluções foram homogeneizadas por 4 min em agitador mecânico

(Marconi-MA 440 / CF) e filtradas com gaze. O extrato aquoso foi submetido a diluições seriadas (10 vezes) em solução ringer a 25% e plaqueados em 3M™ Petrifilm™. A contagem de bactérias ácido lácticas foram realizadas no Petrifilm™ AC, após incubação em 32 °C por 48 h em jarra anaeróbica. A contagem de leveduras e bolores foi realizada em Petrifilm™ YM após incubação a 25 °C por 72 e 120 h, respectivamente.

As concentrações de etanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico das silagens de RMT foram realizadas pelo método de cromatografia em fase gasosa segundo Erwin et al. (1961), e o ácido láctico foi quantificado usando o método colorimétrico (Pryce, 1969).

3.2.4 Desenho experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 2. Os fatores experimentais foram: três inoculantes (controle - silagem de RMT sem aditivos; silagens de RMT inoculadas com *L. plantarum*; e silagens de RMT inoculadas *L. buchneri*) e dois períodos de abertura (15 e 60 dias), com 5 repetições por tratamento, totalizando 30 unidades experimentais (silos). A distribuição e a homogeneidade dos dados foram avaliadas, e dados que não tiveram uma distribuição normal (BAL, leveduras e bolores) foram transformados em logaritmo na base 10.

Análises de variância foram utilizadas para avaliar as análises residuais no SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2 - 2001), pelo procedimento GLM. O nível de significância foi definido para 5% e o modelo estatístico utilizado para as análises foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + I_i + A_j + IA_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Onde: Y_{ij} é a variável de resposta, μ é a média geral; I_i é o efeito dos inoculantes, A_j é o efeito fixo do período de abertura, IA_{ij} é a interação entre inoculantes e período de

abertura, e ϵ_{ij} é o erro. Testes de Tukey e T foram usados para comparar as médias dos tratamentos. As diferenças significativas foram declaradas quando $P \leq 0,05$.

3.3 RESULTADOS

Os efeitos dos inoculantes microbianos sobre os valores químico-bromatológicos da silagem de RMT são apresentados na Tabela 3. Os teores de MS, PB, FDA, DIVMS, cinzas, EE e amido das silagens de RMT não foram influenciadas pelos inoculantes, tão pouco pelos períodos de abertura e suas interações (Tabela 3).

O teor de FDN apresentou interação significativa ($P < 0,01$) entre os inoculantes e os períodos de abertura (I x A), e o tratamento controle ensilado por 15 dias apresentou os maiores valores de FDN (38,3%). O nitrogênio amoniacal (N-NH₃) da silagem de RMT foi afetado pelos períodos de abertura ($P < 0,01$), e as silagens de RMT com período de abertura de 60 dias apresentaram os maiores valores (16,5%).

Tabela 3. Composição química-bromatológica das silagens de RMT inoculadas com aditivos microbianos.

Itens	Abertura (dias)	Controle	<i>L. buchneri</i>	<i>L. plantarum</i>	EPM ³	P-Valor ⁴		
						I	A	I x A
MS (%)	15	41,4	41,5	41,5	0,05	0,57	0,07	0,82
	60	41,6	41,6	41,5	0,04			
PB (%)	15	15,5	15,7	15,5	0,11	0,93	0,12	0,42
	60	15,8	15,6	15,8	0,07			
FDN (%)	15	38,3 ^{Aa}	35,2 ^{Ab}	35,4 ^{Ab}	0,39	<001	0,08	<0,01
	60	36,3 ^{Ba}	35,7 ^{Aa}	35,7 ^{Aa}	0,17			
FDA (%)	15	18,9	18,5	18,4	0,09	0,13	0,13	0,36
	60	18,5	18,3	18,4	0,11			
DIVMS (%) ¹	15	84,4	83,9	83,3	0,20	0,16	0,84	0,41
	60	84,0	83,9	83,8	0,22			
CINZAS (%)	15	7,4	7,5	7,5	0,03	0,72	0,47	0,29
	60	7,4	7,5	7,4	0,03			
EE (%)	15	2,9	2,9	2,9	0,02	0,88	0,40	0,44
	60	2,9	2,9	2,9	0,03			
N-NH ₃ (% NT) ²	15	16,0	15,9	16,0	0,10	0,85	<0,01	0,72
	60	16,6	16,5	16,3	0,15			
AMIDO (%)	15	30,6	31,0	30,3	0,18	0,26	0,79	0,25
	60	30,1	30,8	30,8	0,18			

¹ Digestibilidade *in vitro* da MS;

² Nitrogênio amoniacal apresentado em % do nitrogênio total;

³ Erro padrão da média; Letra maiúscula é a comparação do tempo dentro do tratamento na coluna; Para a comparação do tempo foi utilizado o teste T; Letras minúsculas são a comparação dos tratamentos dentro do tempo na linha; O teste de Tukey foi utilizado para os tratamentos

⁴ P-valor e considerado significativo quando for menor ou igual 0,05; I = Inoculantes, A = períodos de abertura e I x A = interações entre inoculante e período de abertura

Na Tabela 4 são apresentados o efeito dos inoculantes, e dos períodos de abertura e sua interação nos valores de pH e nos produtos da fermentação da silagem de RMT. Houve interação entre os inoculantes e período de abertura para os valores de pH da silagem RMT ($P < 0,01$), e o aditivo *L. plantarum* foi o que apresentou o menor valor de pH (4,29) no período aberto de 60 dias. Para o período de abertura de 15 dias os inoculantes não alteraram o pH da silagem de RMT.

Para as concentrações de ácido butírico, houve interação ($P < 0,01$) entre os inoculantes e os períodos de abertura, sendo o tratamento controle no período de abertura com 15 dias o que apresentou a maior concentração (0,03%).

As concentrações de ácido láctico, ácido acético e etanol foram afetadas pelos períodos de abertura ($P < 0,01$), e o período de abertura de 60 dias foi o que apresentou os maiores valores (3,7%; 2,7% e 0,6% da MS, respectivamente). Para as concentrações de ácido propiônico, não foram encontrados efeitos significativos entre os tratamentos.

Tabela 4. Efeitos dos aditivos heterofermentativos nos valores de pH e nos produtos da fermentação da silagem de RMT.

Compostos (%)	Abertura (dias)	Controle	<i>L. buchneri</i>	<i>L. plantarum</i>	EPM ¹	P-Valor ²		
						I	A	I x A
pH	15	4,70 ^{Aa}	4,68 ^{Aa}	4,70 ^{Aa}	0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	60	4,51 ^{Ba}	4,39 ^{Bb}	4,29 ^{Bc}	0,02			
Ácido láctico	15	2,5	2,5	2,6	0,06	0,24	<0,01	0,94
	60	3,8	3,6	3,8	0,10			
Ácido acético	15	2,4	2,5	2,3	0,06	0,12	<0,01	0,96
	60	2,7	2,8	2,6	0,05			
Ácido propiônico	15	0,3	0,3	0,3	0,01	0,23	0,19	0,50
	60	0,3	0,3	0,3	0,01			
Ácido butírico	15	0,03 ^{Aa}	0,02 ^{Ab}	0,02 ^{Ab}	0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	60	0,02 ^{Ba}	0,02 ^{Aa}	0,02 ^{Aa}	0,01			
Etanol	15	0,4	0,4	0,4	0,01	0,44	<0,01	0,82
	60	0,6	0,5	0,6	0,02			

¹ Erro padrão da média; Letras maiúsculas é a comparação do tempo dentro do tratamento na coluna; Para a comparação do tempo, foi utilizado o teste T; Letras minúsculas são as comparações dos tratamentos dentro do tempo na linha; O teste de Tukey foi utilizado para os tratamentos

² P-valor foi considerado significativo quando foi menor ou 0,05; I = Inoculantes, A = períodos de abertura e I x A = interações entre inoculantes e período de abertura

Tabela 5. Efeitos dos aditivos heterofermentativos no volume de gás produzido (VG) e as perdas fermentativas das silagens de RMT.

Itens	Abertura (dias)	Controle	<i>L. buchneri</i>	<i>L. plantarum</i>	EPM ⁵	P-Valor ⁶		
						I	A	I x A
VG (L t ⁻¹ MS) ¹	15	385	341	353	8,57	0,43	<0,01	0,19
	60	1.265	1.294	1.372	29,2			
PerTMS (%) ²	15	1,4	1,0	0,9	0,10	0,89	0,02	0,54
	60	0,6	0,5	0,8	0,12			
PerG (%) ³	15	1,2	0,9	0,7	0,14	0,28	<0,01	0,12
	60	0,5	0,5	0,6	0,12			
PerE (kg t ⁻¹ MV) ⁴	15	0,8	0,8	0,9	0,05	0,07	0,03	0,23
	60	0,9	1,4	1,2	0,10			

¹ Volume de gás produzido é apresentado em litros por tonelada de massa seca

² Perdas totais

³ Perdas de gases

⁴ Perdas de efluentes são apresentadas em kg por tonelada de forragem fresca

⁵ Erro padrão da média

⁶ Valor de P foi considerado significativo se menor ou igual 0,05; I = Inoculantes, A = períodos de abertura e I x A = interações entre inoculantes e período de abertura

O volume de gás (VG), perdas totais de MS (PerTMS), perdas por gás (PerG) e perdas por efluentes (PerE) da silagem de RMT são apresentadas na Tabela 5. O volume de gás (VG) e as perdas fermentativas (PerTMS, PerG, PerE) das silagens de RMT não foram influenciadas pelos inoculantes, e não foi detectada interação entre os fatores (I x A). No entanto, eles foram influenciados pelos períodos de abertura, e a silagem de RMT com período de abertura de 60 dias apresentou a menor PerTMS (0,64%) e PerG (0,53%) e o maior VG (1,310 L t⁻¹ MS) e PerE (1,17 kg t⁻¹ forragem fresca).

As contagens de bactérias ácido lácticas (BAL) e de leveduras da silagem de RMT (Tabela 6) foram influenciadas pelos períodos de abertura (P <0,01), sendo o período de abertura de 60 dias o que apresentou a maior contagem de BAL (8,3 ufc g⁻¹ RMT fresca) e menor contagem de leveduras (3,2 ufc g⁻¹ RMT fresca). A contagem de bolores não foi influenciada pelos inoculantes, tão pouco pelos períodos de abertura e suas interações.

Houve interação entre inoculantes e os períodos de abertura para os valores da estabilidade aeróbia (EA) e perda total de MS (PMSea) após abertura dos silos nas silagens de RMT. O tratamento com o aditivo *L. plantarum* apresentou o menor tempo para que houvesse a quebra da EA (50 h) e as maiores PMSea (23,3%) quando a RMT foi ensilada por 15 dias (Tabela 6).

Tabela 6. Efeitos dos aditivos heterofermentativos na contagem microbiana e na estabilidade aeróbia das silagens de RMT.

Itens	Abertura (dias)	Controle	<i>L. buchneri</i>	<i>L. plantarum</i>	EPM ⁴	P-Valor ⁵		
						I	A	I x A
BAL (log ufc g ⁻¹) ¹	15	6,8	6,9	6,9	0,03	0,47	<0,01	0,73
	60	8,3	8,3	8,3	0,01			
Leveduras (log ufc g ⁻¹)	15	4,3	4,1	3,9	0,11	0,66	<0,01	0,10
	60	3,2	3,2	3,3	0,05			
Bolors (log ufc g ⁻¹)	15	2,6	3,0	3,2	0,22	0,71	0,39	0,91
	60	2,5	2,6	2,7	0,35			
EA ²	15	64,4 ^{Ba}	67,6 ^{Ba}	50,0 ^{Bb}	2,96	<0,01	<0,01	<0,01
	60	216 ^{Aa}	216 ^{Aa}	216 ^{Aa}	-			
PMSea (%) ³	15	18 ^{Ab}	18 ^{Ab}	23 ^{Aa}	8,08	<0,05	<0,01	0,03
	60	1,2 ^{Ba}	1,1 ^{Ba}	0,5 ^{Ba}	1,56			

¹ Bactérias ácido lácticas

² Estabilidade aeróbia (horas para que a silagem exceda 2 °C à temperatura ambiente)

³ Perdas totais de matéria seca durante a estabilidade aeróbia

⁴ Erro padrão da média; Letras maiúsculas é a comparação do tempo dentro do tratamento na coluna; Para a comparação do tempo, foi utilizado o teste T; Letras minúsculas são as comparações dos tratamentos dentro do tempo na linha; O teste de Tukey foi utilizado para os tratamentos

⁵ P-valor foi considerado significativo quando foi menor ou 0,05; I = Inoculantes, A = períodos de abertura e I x A = interações entre inoculantes e período de abertura

Na Figura 1 são apresentados os efeitos dos inoculantes microbianos sobre as temperaturas e os valores de pH da silagem de RMT expostas ao ar, após a abertura dos silos. Para as silagens com o período de abertura de 15 dias (Figura 1A), houve interação entre os inoculantes e os períodos de abertura ($P < 0,01$) para as curvas dos valores de temperatura da silagem de RMT, e o aditivo *L. plantarum* foi o pior (50 h) em manter a resistência da silagem para que houvesse a quebra da estabilidade aeróbia quando comparado ao tratamento controle (64 h), e o tratamento com *L. buchneri* (68 h). No entanto, para o período de abertura de 60 dias (Figura 1B), a temperatura da silagem permaneceu estável durante as 216 horas de avaliação (9 dias), independentemente dos inoculantes utilizados. O comportamento para as curvas dos valores de pH das silagens de RMT (Figuras 1C e 1D), foram semelhantes às curvas encontradas para as temperaturas.

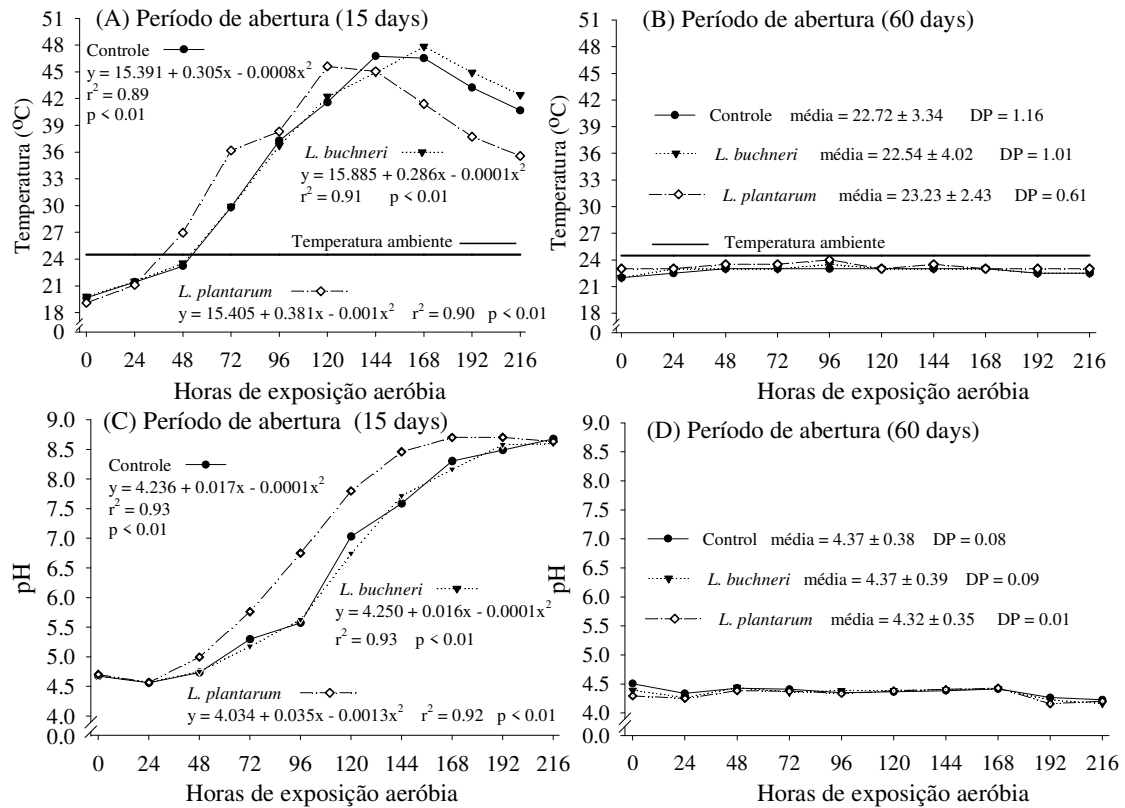


Figura 1. Efeitos dos inoculantes microbianos sob a temperatura (A e B) e pH (C e D) da silagem de RMT exposta ao ar após a abertura.

3.4 DISCUSSÃO

Os teores de MS, PB, FDA, DIVMS, Cinzas, EE e amido das silagens de RMT não foram influenciados pelos inoculantes utilizados, tão pouco pelos períodos de abertura e suas interações (Tabela 3). Uma possível explicação para que os valores químicos-bromatológicos das silagens de RMT se mantiveram próximos aos valores iniciais (Tabela 1), pode estar relacionado a qualidade e sanidade dos materiais ensilados, o bom processo de vedação dos silos, maior população inicial de BAL, elevado teor de MS, maior densidade específica no silo, e do pH reduzido ao início do processo de ensilagem. Esses fatores em sinergia diminuem as perdas durante o processo fermentativo, e os aditivos *L. buchneri* e *L. plantarum* não foram eficientes em alterar positivamente os valores bromatológicos da silagem de RMT nas condições em que o estudo foi realizado.

Segundo McDonald (1991), um pequeno desaparecimento nos teores de MS durante o processo fermentativo nas silagens é normal; no entanto, para as silagens de RMT, essas perdas parecem ser menores do que nas silagens de gramíneas. Miyaji et al. (2013), ao avaliarem o efeito da substituição de grãos integrais de arroz por grãos de milho na silagem de RMT, constataram uma diminuição de 0,7% de MS quando o material ficou ensilado por 90 dias. Chen et al. (2015), avaliaram os efeitos da substituição da aveia por aveia comum e ervilhaca sobre a qualidade fermentativa, composição químico-bromatológica e estabilidade aeróbia da silagem de RMT, e encontraram uma diminuição de 0,4% de MS quando RMT ficou ensilada por 45 dias. No presente estudo, o desaparecimento médio da MS para ambos os tratamentos foi de 0,3% corroborando com os baixos valores de perdas encontrados na literatura. Esse pequeno ou quase que inexpressível desaparecimento de MS nas silagens de RMT durante o processo fermentativo pode estar relacionado com os mesmos fatores mencionados anteriormente, que mantiveram os valores químicos-bromatológicos próximos aos valores iniciais.

Os inoculantes microbianos *L. plantarum* e *L. buchneri* diminuíram os teores de FDN da silagem de RMT no período de abertura de 15 dias (Tabela 3). Isso pode ser atribuído a ocorrência da hidrólise ácida nas frações potencialmente digestíveis da hemicelulose, devido ao pH reduzido ao início do processo de ensilagem. McDonald (1991), comentam que pequenas proporções da hemicelulose podem sofrer decomposição química quando a fermentação da silagem cessa devido à falta de carboidratos e as bactérias ácido lácticas podem fermentar os açúcares liberados pela decomposição da hemicelulose. Xing et al. (2009), ao estudarem os efeitos de inoculantes enzimáticos sobre a fermentação e valor nutritivo da silagem de palhada de sorgo, verificaram que as enzimas têm potencial para diminuir os teores de FDN, provavelmente devido à ocorrência da hidrólise ácida nas frações potencialmente digestíveis da hemicelulose, corroborando com as respostas encontradas no presente estudo quando ensilados por períodos mais reduzidos.

O aumento do N-NH₃ em silagens durante o processo fermentativo é indicativo de quebra de proteínas, quase sempre devido à atividade de enterobactérias e das bactérias do gênero *Clostridium*. Isso pode ocorrer por meio do desvio da rota de fermentação láctica, promovendo proteólise que degrada proteínas e aminoácidos, transformando-os em produtos nocivos à saúde animal, causando elevadas perdas. (McDonald 1991).

O período de abertura de 60 dias apresentou os maiores valores de N-NH₃ (16,5%) na silagem de RMT (Tabela 3), e os inoculantes *L. buchneri* e *L. plantarum* não foram eficientes em manter as concentrações de N-NH₃ próximas as concentrações iniciais (15,5%). Isso poderia indicar uma pequena atividade de microrganismos indesejáveis. Contudo, como o pH inicial das RMT já era baixo (4,8), provavelmente a elevação nos teores de N-NH₃ encontradas no presente estudo pode ser decorrente da presença de ureia nessas dietas (Tabela 1). Segundo Liu et al. (2016), a concentrações de N-NH₃ abaixo de 10% da MS, é um indicativo que as silagens de RMT estão bem preservadas quando não têm ureia na dieta.

O valor do pH é um indicativo importante para avaliar a qualidade fermentativa das silagens (Muck, 2013), mas este indicativo é dependente do teor de MS da silagem, dos ingredientes que compõem o material a ser ensilado, dos aditivos utilizados e do tempo de armazenamento da silagem. Para silagens de RMT com alto teor de MS $\geq 40\%$, o valor de pH normal pode estar entre 4,0 e 5,0 (Yang et al., 2011, Chen et al., 2015, Liu et al., 2011). Nishino et al. (2007) ao avaliarem o processo fermentativo e a estabilidade aeróbia de silagens de RMT inoculadas com os aditivos, *L. casei* na dose 3×10^6 ufc g^{-1} de forragem fresca e *L. buchneri* na dose 1×10^6 ufc g^{-1} de forragem fresca, constataram que os aditivos podem diminuir o pH da silagem de RMT para 4,09 e 4,18, respectivamente, quando permanece ensilada por 60 dias.

Com base no valor do pH da silagem de RMT encontrado no presente estudo e nos demais estudos, podemos afirmar que o teor de MS do material ensilado, o nível ou a dose aplicada dos inoculantes microbianos e o período de abertura dos silos são fatores que podem influenciar diretamente no valor do pH das silagens de RMT.

Durante o processo fermentativo das silagens, são produzidos ácidos orgânicos, álcoois, aldeídos, ésteres e cetonas (Weiß et al., 2009). Liu et al. (2016), ao avaliar os efeitos dos inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa da silagem de RMT ensilada durante 60 dias, encontraram as maiores concentrações de ácido láctico (3,8% da MS) no tratamento com o aditivo *L. plantarum* consorciado com as enzimas fibrolíticas. Estas concentrações de ácido láctico na silagem de RMT são semelhantes às encontradas em nosso estudo, quando o período abertura foi de 60 dias (3,7% de MS).

Nishino et al. (2004), avaliando os produtos fermentativos da silagem de RMT inoculada com inoculantes microbianos, *L. casei* e *L. buchneri* encontraram concentrações de ácido acético e etanol de 1,1; 2,7% e 0,6; 0,4% da MS, respectivamente, para cada aditivo, quando os silos foram abertos com 10 dias, e quando os silos foram abertos com 60 dias, as

concentrações aumentaram para 1,5; 5,3% e 2,5; 0,7% da MS, respectivamente. Comportamento semelhante foi verificado em nosso estudo, onde o no período de abertura de 15 dias, a silagem de RMT apresentou menor concentração de ácido acético (2,4 % MS) e etanol (0,4% MS), aumentando para 2,7 % e 0,6% da MS respectivamente, no período de abertura com 60 dias. De acordo com Muck et al., (2018) a conversão anaeróbica de ácido láctico em ácido acético pelas bactérias heterofermentativa obrigatórias não ocorre imediatamente e precisa de cerca de 30 a 60 dias para se tornar aparente, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

Wang et al. (2010) encontraram concentrações de ácido propiônico variando de 0,04%; 0,1% e 0,2% da MS quando a RMT foi ensilada por: 0; 7 e 14 dias. Esses valores de ácido propiônico foram menores do que os encontrados em nosso estudo (0,3% MS para ambos os períodos de abertura), talvez devido aos diferentes ingredientes da RMT e o teor de MS. Chen et al. (2015), avaliando os efeitos da substituição do milho integral por aveia e ervilhaca sobre a qualidade fermentativa da silagem de RMT ensilada por 45 dias, encontraram uma concentração de ácido butírico de 0,02% MS para o tratamento controle, e quando a aveia e ervilhaca comum foram misturadas com o tratamento controle, não foi encontrado concentração de ácido butírico. O mesmo comportamento foi encontrado em nosso estudo, quando a RMT foi ensilada por 15 dias, o tratamento controle apresentou a maior concentração de ácido butírico (0,03% MS). Porém quando o período de abertura foi de 60 dias os três tratamentos mostram as mesmas concentrações de ácido butírico.

Durante o período de fermentação da silagem de RMT, o ácido láctico foi o produto mais abundante das BAL. Este processo é desejável pois pode preservar quase toda a matéria seca e energia bruta do material ensilado (McDonald et al., 1991). A concentração do ácido acético também é desejável na silagem, pois inibe a proliferação das leveduras, e bolores, o que aumenta a estabilidade aeróbia após a abertura do silo. Porém, Muck (2010), comenta que

a produção de ácido acético através das BAL heterofermentativo obrigatórios resultam em perda adicional de CO₂, e na diminuição da recuperação de matéria seca em aproximadamente 1 ponto percentual em média. Contudo em nosso estudo não foi observado aumento na concentração de ácido acético em função dos inoculantes utilizados, mas houve aumento em função dos períodos de abertura (Tabela 4), porém não foi observado diminuição na recuperação de MS nas silagens tratadas com os aditivos heterofermentativo obrigatórios em ambos os períodos de abertura. Isso pode ter ocorrido devido as baixas doses dos inoculantes microbianos utilizados e também por causa das forragens já estarem fermentadas.

A conversão dos carboidratos solúveis em etanol resulta em perdas elevadas de MS, contudo, não resulta em uma grande perda de energia bruta durante o processo fermentativo e armazenagem (McDonald, 1991; Imai, 2000). Porém esta energia pode ser desperdiçada antes da silagem ser fornecida aos animais, porque o etanol volatiliza rapidamente. De acordo com Wang e Nishino (2008), culturas com altos teores de matéria seca e alto teor de açúcar as vezes produzem silagens mais alcoólicas, com isso a silagem de RMT pode ser mais propensa a fermentações alcoólicas do que a silagem convencional. Porém no presente estudo os valores médios de etanol podem ser considerados baixos, mesmo para silagens de RMT armazenadas por 60 dias (0,6% da MS).

O volume de gás produzido e as perdas fermentativas da silagem de RMT foram baixas (Tabela 5). Tabacco et al. (2011) avaliaram as perdas fermentativas totais das silagens de milho e sorgo inoculadas com inoculantes microbianos *L. buchneri* e *L. plantarum*, encontram perdas fermentativas totais de MS de 3,2 e 3,4% para as silagens de milho e de 2,8 e 2,2 para as silagens de sorgo respectivamente, quando armazenadas por 90 dias

Os baixos valores de perdas durante o processo fermentativo presente no estudo (Tabela 5) podem ser devidos a eficiência de compactação, à vedação adequada dos silos, ao elevado teor de MS da RMT e ao baixo pH inicial do material devido as forragens já estarem

fermentadas. Contudo, os inoculantes microbianos *L. buchneri* e *L. plantarum* não foram eficientes em reduzir as perdas fermentativas da silagem de RMT em ambos os períodos de abertura.

Um efeito de difícil explicação foi detectado no presente estudo. Embora os valores mensurados de volume de gás produzido (VG) tenham sido maiores aos 60 dias, os valores gravimétricos para estimar PerTMS e PerG foram maiores nos silos abertos após 15 dias de armazenamento (Tabela 5). Esse comportamento pode ser devido ao uso de valores do teor de MS em estufa para calcular as estimativas de perdas. O maior teor de ácido láctico da RMT abertas aos 60 dias pode ter levado ao menor desaparecimento de compostos orgânicos na estufa, reduzindo as estimativas de perdas. Esse efeito é consistente para indicar a fragilidade das estimativas gravimétricas de perdas baseadas em amostras secas em estufa, sem correção para voláteis.

A população de microrganismos nas silagens é dependente de vários fatores, e quantificá-los permite entender a dinâmica de proliferação de microrganismos indesejáveis durante o processo fermentativo (Muck, 2010). Nas silagens de RMT, os inoculantes microbianos *L. buchneri* e *L. plantarum* não alteraram as contagens de BAL, levedura e bolores, entretanto, o período de abertura de 60 dias foi o que apresentou a maior população de BAL, menor contagem de leveduras e a menor perda de MS (PMSea) quando o material foi exposto ao ar por 216 horas (Tabela 6). Silagens de RMT armazenadas por 60 dias não apresentaram aquecimento durante 9 dias de exposição aeróbia, indicando que o maior período de armazenamento antes da abertura aumenta significativamente a estabilidade desse alimento.

Hu et al. (2015), ao avaliarem o efeito das BAL sobre as características fermentativas de silagens de RMT com bagaço de pêssago, encontraram contagens de BAL de 10^8 ufc g^{-1} no material ensilado por 14 dias. Diminuindo para 10^6 ufc g^{-1} de forragem fresca quando o

material ficou ensilado por 56 dias. Uma possível justificativa para essa maior contagem de BAL no material com período de abertura de 14 dias, pode estar associada ao efeito deletério dos ácidos sobre essas populações. Assim, o período de armazenamento juntamente com os ingredientes que compõem a RMT podem influenciar a contagem de BAL. Em nosso estudo a população de BAL aumentou até os 60 dias de ensilagem.

A diminuição na contagem de leveduras na silagem de RMT também foi encontrada por Hu et al. (2015), com valores de 10^6 ufc g^{-1} no período de abertura de 14 dias, diminuindo para 10^4 ufc g^{-1} no período de abertura com 56 dias. Wang e Nishino (2013), avaliando a influência das temperaturas (5, 15, 25 e 35 °C) e os período de abertura (10, 30, 90 dias) na silagem de RMT, encontraram respostas similares ao presente estudo, ou seja, quando a RMT permaneceu ensilada por mais tempo a contagem de levedura reduziu. Com base nos resultados do presente estudo e os encontrados na literatura, podemos afirmar que ocorrem mudanças na população microbiana das silagens de RMT durante o período de armazenamento, com aumento na população das BAL e redução nas leveduras (Tabela 6). Isso significa que o processo de conservação da RMT foi bem conduzido, e as perdas tendem a serem menores. Em nosso estudo, o período de abertura com 15 dias parece ser insuficiente para que ocorra uma adequada proliferação microbiana ácido láctica.

O tempo para que ocorra a quebra da estabilidade aeróbica nas silagens é um tema bastante pesquisado (Nishino et al., 2004, Yuan et al., 2015). Segundo Wang e Nishino (2008), a maior deterioração aeróbica da silagem de RMT ocorre quando o material é armazenado na forma de silagem por períodos mais curtos (14 dias). Nossos dados corroboram com essa afirmação. Wang e Nishino (2009) concluíram que RMT é uma boa opção para preservar coprodutos úmidos de cervejaria na forma de silagem, e o inoculante microbiano *L. buchneri* desempenhou um papel importante na inibição da deterioração aeróbica.

Quando todas as etapas para a produção das silagens de RMT são realizadas corretamente, pode ser criado um ambiente adequado para o desenvolvimento das BAL, e uma menor proliferação de leveduras e bolores, o que pode auxiliar para aumentar o número de horas para a quebra da estabilidade aeróbica (Nishino et al., 2004; Hu et al., 2010). No presente estudo, a RMT que ficou ensilada por 15 dias, tratada com o inoculante microbiano *L. plantarum* apresentou o pior valor para a estabilidade aeróbica (50 h) e a maior perda de MS (23 %) após a abertura dos silos, (Tabela 6). Contudo, quando a RMT ficou ensilada por 60 dias, não houve a quebra da estabilidade aeróbica, e as perdas de MS foram baixas. Isso pode ser explicado devido a diminuição na população de leveduras e um aumento nos teores do ácido acético.

De modo geral os inoculantes microbianos *L. plantarum* e *L. buchneri* não foram eficientes em melhorar o processo fermentativo da silagem de RMT. As perdas fermentativas e as concentrações dos ácidos orgânicos, são dependentes principalmente da população microbiana, do teor de MS, do período de armazenamento e dos ingredientes que compõem a RMT.

3.5 CONCLUSÃO

Nas condições em que o presente trabalho foi desenvolvido, os inoculantes microbianos *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri* não foram eficientes em melhorar o perfil fermentativo, prolongar a estabilidade aeróbica e diminuir as perdas quantitativas e qualitativas das silagens de ração em mistura total. Contudo, a RMT apresenta características desejáveis para ser armazenada na forma de silagem, e o período de abertura dos silos com 15 dias parece ser insuficiente para que ocorra adequada atividade bacteriana.

3.6 REFERÊNCIAS

- AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC Int., Arlington, VA.
- Bolsen, K. K.; Lin, C.; Brent, B. E. et al. 1992. Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silage. *J. Dairy Sci.* 75:3066 – 3082. doi:10.3168/jds.S0022-0302(92)78070-9.
- Chaney, A. L., Marbach, E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chemistry* 8:20-22.
- Chen, L., Guo, G., Yu, C. Zhang, J. Shimojo, M., Shao, T. 2015. The effects of replacement of whole-plant corn with oat and common vetch on the fermentation quality, chemical composition and aerobic stability of total mixed ration silage in Tibet. *Anim. Sci. J.* 86:69–76. doi: 10.1111/asj.12245.
- Demiato, I.M., Konkell, F.E., Pedrosa, R.A. 2001. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de doce de leite pastoso – composição química. *Ciê. Tecnol. Aliment.* 21:108-114. doi:10.1590/S0101-20612001000100023.
- Der Bedrosian, M. C., Nestor, K. E., Kung, Jr. L. 2012. The effects of hybrid, maturity and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *J. Dairy Sci.* 95:5115 – 5126. doi: 10.3168/jds.2011-4833.
- Dunière, L., Sindou, J., Durand, F. C., Chevallier, I., Sergentet, D. T. 2013. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Anim. Feed Sci. and Techn.* 182:1 - 15. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.006.
- Erwin, E.S.; Marco, G.J.; Emery, E.M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768-1771. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6.
- Ferraretto, L. F., and R. D. Shaver. 2012. Meta-analysis: Impact of corn silage harvest practices on intake, digestion and milk production by dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 28:141–149.
- Ferraretto, L. F., and R. D. Shaver. 2015. Impact of whole-plant corn silage hybrid type on intake, digestion, ruminal fermentation and lactation performance by dairy cows through a meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 98:2662–2675.
- Ferraretto, L. F., Shaver, R. D., Luck, B. D. 2018. *Silage review*: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *J. Dairy Sci.* 101:3937–3951. doi.org/10.3168/jds.2017-13728.
- Hoffman, O. C., Esser, N. M., Shaver, R. D. et al., 2011. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. *J. Dairy Sci.* 94:2465 – 2472. doi: 10.3168/jds.2010-3562.
- Holden, L. A. 1999. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci.* 82:1791-1794. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75409-3.

- Hu, X., W. Hao, H. Wang, T. Ning, M. Zheng, and C. Xu. 2015. Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 28:502 – 510. doi: 10.5713/ajas.14.0508.
- Jobim, C.C., Nussio, L. G., Reis, A. R., Schmidt, P. 2007. Methodological advances in evaluation of preserved forage quality. *R. Bras. Zootec.* 36:101-119. doi:10.1590/S1516-35982007001000013.
- Kleinschmit, D. H. and Kung, Jr. L. 2006. A Meta-Analysis of the Effects of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn and Grass and Small-Grain Silages. *J. Dairy Sci.* 89:4005–4013. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4.
- Kung Jr. L., Grieve, D. B., Thomas, J. W. and Huber J. T. 1984. Added Ammonia or Microbial Inocula for Fermentation and Nitrogenous Compounds of Alfalfa Ensiled at Various Percents of Dry Matter. *J Dairy Sci* 67:299-306. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(84)81302-8.
- Kung Jr. L., Robinson Jr., Ranjit N. K., Chen J. H., Golt C. M. and Pesek J. D. 2000. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *J. Dairy Sci.* 83:1479-1486. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)75020-X.
- Kung, Jr. L.; Ranjit, N. K. 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *J. Dairy Sci.* 84: (5):1149-1155. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74575-4.
- Kung, Jr. L. 2009. International Symposium on Forage Quality and Conservation. Proceeding. Piracicaba, FEALQ.
- Kung, Jr. L., Windle, M. C., Walker, N. 2014. The effect of an exogenous protease on the fermentation and nutritive value of high-moisture corn. *J. Dairy Sci.* 97:1 – 6. doi:10.3168/jds.2013-7469
- Lee, S. J., Shin, N. H., Chu, G. M., Lee, S. S. 2011. Effects of Synbiotics Containing Anaerobic Microbes and Prebiotics on *In vitro* Fermentation Characteristics and *In situ* Disappearance Rate of Fermented-TMR. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 24:1577 – 1586. doi:10.5713/ajas.2011.11057.
- Liu Q H, Zhang J G, Shi S L, Sun Q Z. 2011. The effects of wilting and storage temperatures on the fermentation quality and aerobic stability of style silage. *Anim. Sci. J.* 82:549–553. doi: 10.1111/j.1740-0929.2011.00873.x.
- Liu, Q., Li, X., Seare, T. D., Zhang, J., Shao, T. 2016. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and *in vitro* digestibility of total mixed rations silage including rape straw. *J. Integ. Agric.* 15:2087–2096. doi:10.1016/S2095-3119(15)61233-3.
- Lopes, J.C.; Shaver, P.C.; Hoffman, M.S. et al. 2009. Type of corn endosperm influences nutrient digestibility in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:4541-4548. doi: 10.3168/jds.2009-2090.

- McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. J. E. 1991. Microorganisms. In: McDonald, P. The biochemistry of silage. 2^{ed}. Aberystwyth, UK: Chalcombe Publications.
- Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. J. AOAC Int. 85:1217-1240. Pmid: 12477183.
- Miyaji, M.; Matsuyama, H.; Hosoda, k.; Nonaka, k. 2013. Milk production, nutrient digestibility and nitrogen balance in lactating cows fed total mixed ration silages containing steam-flaked brown rice as substitute for steam-flaked corn, and wet food by-products. Anim. Sci. J. 84:483-488. doi:10.1111/asj.12026.
- Muck, R. E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. R. Bras. Zootec. 39:183 - 191. doi:10.1590/S1516-35982010001300021.
- Muck, R. E. 2013. Recent advances in the silage microbiology. Agriculture and Food Science. 22:3 – 15.
- Muck, R. E. Nadeau, E. M. G. McAllister, T. A. Contreras-Govea, F. E. Santos, M. C. Jung Jr. L. *Silage review: Recent advances and future uses of silage additives*. J. Dairy Sci. 101:3980–4000. doi.org/10.3168/jds.2017-13839.
- Nishino, N., Wada, H., Yoshida, M., Shiota, H. 2004. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. J. Dairy Sci. 87:2563–2570. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73381-0.
- Nishino, N., Hattori, H. 2007. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage inoculated with and without homofermentative or heterofermentative lactic acid bacteria. J. Sci. Food and Agric. 87:2420 - 2426. doi: 10.1002/jsfa.2911.
- Nishino, N., Hattori, H., Wada, H., Touno, E. 2007. Biogenic amine production in grass, maize and total mixed ration silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. J. Appl. Microbiol. 103:325–332. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03244.x
- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 2001. 7th Revised Edition. National Academy Press. Washington, DC.
- Oliveira, L. B., Pires, A. J. V., Carvalho, G. G. P., et al. 2010. Losses and nutritional value of corn, Sudan sorghum, forage sorghum and sunflower silages. R. Bras. Zootec. 39 (1):61-67. doi:10.1590/S1516-35982010000100008.
- Oliveira, A. S., Z. G. Weinberg, I. M. Ogunade, A. A. P. Cervantes, K. G. Arriola, Y. Jiang, D. Kim, X. Li, M. C. M. Goncalves, D. Vyas, and A. T. Adesogan. 2017. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 100:4587–4603.

- Oude Elferink, S. J. W. H., Krooneman, J., Gottschal, J. C. et al. 2001. Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2-Propanediol by *Lactobacillus buchneri*. Appl. Environ. Microbiol. 67:125 – 131. doi: 10.1128/AEM.67.
- Phakachoed, N., Suksombat, W., Colombatto, D., Beauchemin, K. A. 2013. Use of fibrolytic enzymes additives to enhance in vitro ruminal fermentation of corn silage. Livestock Science.157:100–112. doi:10.1016/j.livsci.2013.06.020.
- Pryce, J. D. 1969. A Modification of the Barker-Summerson Method for the Determination of Lactic Acid. Analyst. 94:1151 – 1552. doi.10.1039/AN9699401151.
- SAS. 2001. Statistical Analysis System - SAS. User's guide: statistics Version 8.1, Cary: SAS Institute, (CD-ROM).
- Souza, C. M. 2015. Impacto ambiental da produção de silagens: revisão da literatura e avaliação experimental em silos laboratoriais. 2015. F.132. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias). Curitiba. Universidade Federal do Paraná.
- Tabacco, E., Righi, F., Quarentelli, A., Borreani, G. 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inoculate. J. Dairy Sci. 94:1409–1419. doi: 10.3168/jds.2010-3538.
- Tilley, J. M. A.; Terry, R. A. 1963. The two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. Grass For. Sci. 18:104-111. doi: 10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B.; Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- Wang, F., Nishino, N. 2008. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. J. Sci Food and Agric. 88:133–140. doi: 10.1002/jsfa.3057.
- Wang, F., Nishino, N. 2009. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewer's grains preserved as a silage. Animal Feed Science and Technology. 149:265–274. doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.06.012.
- Wang, F., Nishino, N. 2013 Effects of storage temperature and ensiling period on fermentation products, aerobic stability and microbial communities of total mixed ration silage. J. Appl. Microbiol. 114: 1687 - 1695. doi: 10.1111/jam.12200.
- WeiB, K.; Kalzendorf, C.; Zittlau, J.; Auerbach, H. 2009. Novel results on the occurrence of volatile compounds in maize silages. In: International Silage Conference Proceedings,15., 2009. Madison. Proceedings... Madison.
- Weinberg, Z. G, Muck, R. E. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. FEMS Microbiology Reviews 19:53-68. doi. 10.1111/j.1574-6976.1996.tb00253.x

- Wiles, P.G.; Gray, I. K.; Kissling, R.C. 1998. Routine analysis of protein by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. *J. AOAC Int.* 81:620-632. Pmid: 9606925
- Windle, M. C., Kung Jr, L. 2016. Factors affecting the numbers of expected viable lactic acid bacteria in inoculant applicator tanks. *J. Dairy Sci.* 99:1 – 5. doi: 10.3168/jds.2016-10881.
- Xing L, Chen L J, Han L J. 2009. The effect of an inoculant and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. *Bioresour. Technol.* 100:488–491. doi: 10.1016/j.biortech.2008.06.017.
- Xu, C., Cai, Y., Zhang, J., Matsuyama, H. 2010. Feeding value of total mixed ration silage with spent mushroom substrate. *Anim. Sci. J.* 81:194–198. doi: 10.1111/j.1740-0929.2009.00728.x.
- Yuan, X., Guo, G., Wen, A., et al. 2015. The effect of different additives on the fermentation quality, *in vitro* digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. *Anim. Feed Sci. and Technology.* 207:41–50. doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.06.001.
- Zopollatto, M., Daniel, J. L. P., Nussio, L. G. 2009. Microbial silage additives in Brazil: review of aspects of ensilage and animal performance. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 38:170-189. doi:10.1590/S1516-35982009001300018.

4.0 EFEITO DOS FUROS NO FILME PLÁSTICO DE VEDAÇÃO SOBRE AS PERDAS QUÍMICO-BROMATOLÓGICAS NA RAÇÃO EM MISTURA TOTAL ENSILADA EM FARDOS CILÍNDRICOS

(Arquivo formatado segundo normas da Revista Brasileira de Zootecnia)

RESUMO:

A silagem de ração em mistura total (RMT) é uma tecnologia que está surgindo com o intuito de auxiliar os produtores que têm dificuldade em disponibilizar uma dieta completa e de qualidade aos seus rebanhos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desaparecimento da matéria seca (MS), composição química-bromatológica, temperatura interna e contagens microbianas da RMT ensiladas em fardos cilíndricos com e sem furos no filme plástico de vedação. A RMT foi formulada para vacas leiteiras produzindo 25 kg de leite / dia e ensilada em fardos cilíndricos comerciais de 1.000 kg. Após 10 dias, dois furos de 25 cm² cada foram feitos no filme de vedação em lados opostos do fardo. A temperatura no centro dos fardos foi registrada com registradores de dados (data loggers) durante todo o armazenamento. Após 60 dias de armazenamento, os fardos foram submetidos a um corte longitudinal e duas amostras por fardo foram coletadas para avaliar o teor de MS, composição química-bromatológica, pH e contagem microbiana. A distribuição de temperatura no interior dos fardos cortados foi avaliada por uma câmera termográfica infravermelha. O teor de MS, a recuperação de MS e o pH da silagem de RMT foram levemente afetados pelos furos no filme plástico de vedação durante o armazenamento. No entanto, a composição química-bromatológica, a contagem microbiana e a temperatura não foram afetadas pelos tratamentos. Embora a presença de buracos no processo de vedação e armazenamento de silagens de RMT devem ser evitados, nas condições do presente estudo dois furos de 25 cm² no filme plástico de vedação não foram capazes de causar perdas expressivas.

Palavras chave:

Contagem microbiana, perdas, silagem de ração em mistura total, termográfica infravermelha

4.1 INTRODUÇÃO

A RMT composta por forragens, grãos de cereais, fontes de proteína, minerais, vitaminas e aditivos é amplamente utilizada em fazendas leiteiras (Sova et al., 2014). A mistura nas proporções corretas destes ingredientes tem por objetivo disponibilizar uma ração completa aos animais. No entanto, alguns dos ingredientes úmidos da ração são sensíveis à deterioração e, se as fazendas não tiverem um manejo adequado da ração e uma mão de obra treinada e de qualidade, o uso de RMT pode se tornar restrito (Abdollahzadeh et al., 2010; Yuan et al. 2015; Liu et al., 2016).

A ensilagem da RMT permite a comercialização de ração pronta para uso, além de um melhor aproveitamento de coprodutos úmidos. Essa tecnologia está surgindo com o intuito de auxiliar os produtores de leite ou carne com limitações de mão de obra, falta de maquinário, sem escala de produção, e até mesmo para os produtores com conhecimento limitado em formular uma adequada ração aos seus animais (Miyaji e Nonaka, 2018). Elimina a necessidade da preparação diária da RMT, melhora a preservação dos ingredientes e otimiza o transporte e a comercialização (Ishida et al., 2012; Chen et al., 2015), terceirizando a produção de alimento dos ruminantes.

No Brasil, a silagem de RMT tem sido comercializada principalmente em fardos cilíndricos de 1.000 Kg selados com seis a oito camadas de filme plástico. A principal desvantagem desta tecnologia é a dificuldade na manipulação dos fardos durante o transporte e armazenamento (principalmente devido ao seu peso), o que pode levar ao aparecimento de danos no filme plástico de vedação, facilitando a penetração de ar na massa ensilada. Segundo McDonald et al. (1991), a presença de oxigênio em silagens de gramíneas (milho, cana-de-açúcar, capim, sorgo) durante o processo fermentativo desencadeia a proliferação de microrganismos indesejados como leveduras, fungos e bactérias aeróbias que crescem utilizando as fontes de energia disponíveis nos materiais. Este processo promove elevadas

perdas no valor nutricional das silagens, aumentando a temperatura e diminuindo a quantidade da silagem consumida pelos animais.

Não há dados na literatura sobre perdas causadas pela penetração de ar devido a danos no filme plástico de vedação na silagem de RMT. Nossa hipótese é que a entrada de oxigênio durante o processo fermentativo possa causar elevadas perdas na silagem de RMT. O trabalho teve como objetivo avaliar a recuperação da MS, a composição química-bromatológica, a temperatura e a contagem microbiana da silagem de RMT com e sem furos no filme plástico de vedação.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

A RMT foi formulada para vacas em lactação produzirem 25 kg de leite/dia, segundo NRC, (2001). As proporções dos ingredientes foram pesadas corretamente, misturadas em misturador vertical estacionário (Trioliet modelo 16000L) por 7 min, e posteriormente ensiladas em fardos cilíndricos comerciais de 1.000 kg com massa específica de aproximadamente 370 kg de MS m³, e envelopados com sete camadas de filme plástico (Silotite 100 µm) com o equipamento Orkel modelo MP 2000 Compactor e alocados em ambiente aberto expostos aos fatores climáticos. Os ingredientes, pH, composição química-bromatológica e a contagem microbiana da RMT momentos antes da ensilagem estão apresentados na Tabela 1.

No décimo dia após a ensilagem, dois furos de 25 cm² cada foram realizados em lados opostos do filme plástico de vedação em quatro fardos (tratamento com furos), e quatro fardos foram mantidos intactos. Após 60 dias de armazenamento, os fardos foram pesados e cortados manualmente em duas metades. O plano de corte foi realizado longitudinalmente, passando por ambos os furos no filme plástico. Metade do fardo (\pm 500 kg) foi

homogeneizada e a silagem de RMT foi amostrada para avaliar o teor de MS, composição bromatológica, contagem microbiana e pH.

Tabela 1. Ingredientes, pH, composição química-bromatológica e contagem microbiana da ração em mistura total antes da ensilagem.

Ingredientes	Ração em mistura total (g kg ⁻¹ MS)
Silagem de milho	449,5
Pré-secado de azevém	194,6
Fubá de milho	136,4
Farelo de Soja (46%)	93,0
Farelo de glúten de milho (<i>Promil</i> ®) ¹	92,7
Bicarbonato de sódio	10,3
Mineral (<i>Nucleo Melk</i> ®) ²	10,3
Sal branco	5,1
Ureia	4,1
Calcário calcítico	4,1
Composição	Média ± DP ⁴
pH	4,9 ± 0,02
Matéria seca (g kg ⁻¹)	417,8 ± 0,21
Proteína bruta (g kg ⁻¹)	158,5 ± 0,09
Fibra em detergente neutro (g kg ⁻¹)	375,3 ± 0,63
Fibra em detergente ácido (g kg ⁻¹)	191,7 ± 0,35
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS (g kg ⁻¹)	833,9 ± 0,97
Amido (g kg ⁻¹)	310,5 ± 0,24
Extrato etéreo (g kg ⁻¹)	28,4 ± 0,05
Cinzas (g kg ⁻¹)	73,9 ± 0,09
Nitrogênio amoniacal ³	155,5 ± 0,13
Contagem microbiana (log ufc g)	Média ± EPM ⁴
Bactérias ácido lácticas	5,5 ± 0,03
Leveduras	4,9 ± 0,08
Bolores	3,9 ± 0,11

¹ Proteína Bruta (24.4% MS), Fibra bruta (9.4% MS), Amido (8.9% MS), Cinzas (7% MS)

² Enxofre (0.7% MS), Sódio (0.04% MS), Cloro (0.35% MS), Ferro (144 ppm), Manganês (23 ppm), Zinco (85 ppm), Cobre (7.5 ppm), Molibdênio (1.7 ppm), DCAD (5.8 meq/100gdm), NDT (77% MS), CNF (19% MS)

³ Nitrogênio amoniacal está representado em g kg⁻¹ do nitrogênio total

⁴ Erro padrão da média.

A outra metade dos fardos foi mantida intacta para captura de imagem térmica usando câmera termográfica infravermelha (Fluke Ti25) para identificar possíveis locais de aquecimento.

Utilizando o software SmartView®, três áreas de 600 cm² foram isoladas na termografia de cada fardo, sendo duas na borda (próximas aos furos) e uma no centro (Figura 1). Em cada área, a temperatura média foi tomada. A diferença entre a temperatura média das extremidades e do centro foi calculada (Δt). Após as medições termográficas, os fardos foram desfeitos para recuperar os registradores de dados (data loggers).

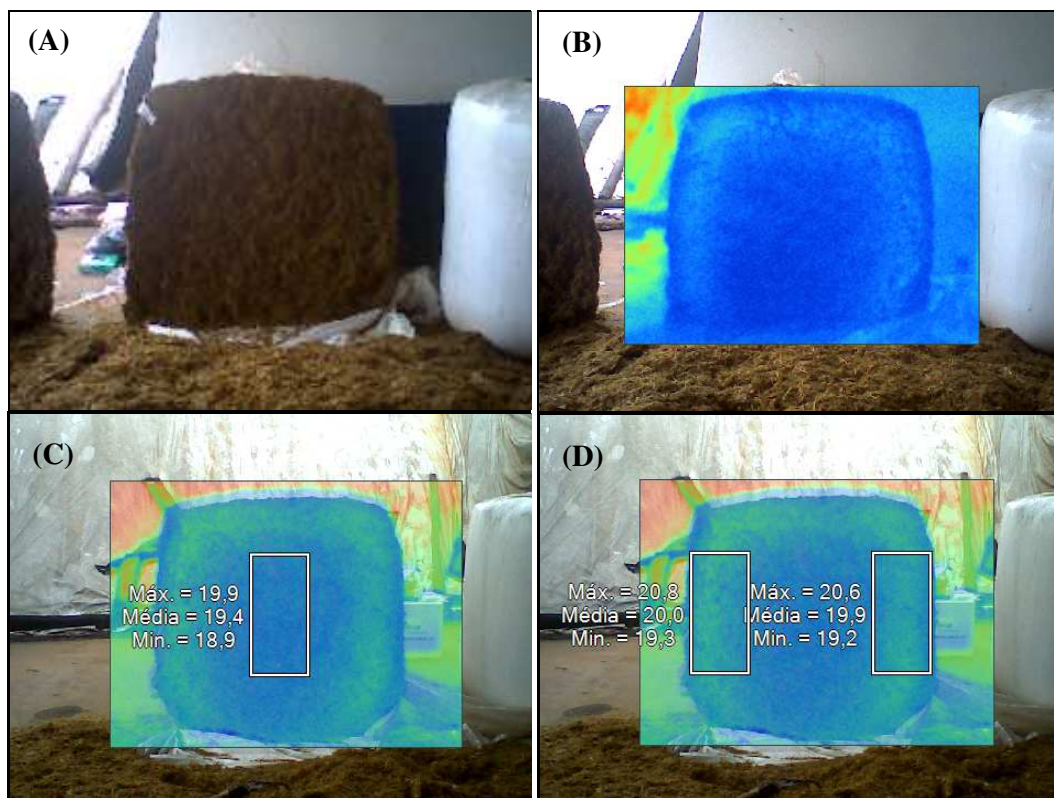


Figura 1. Termo imagens da câmera termográfica (corte longitudinal (A), corte longitudinal com a imagem termográfica sobreposta (B)), e os pontos de coleta (temperaturas no centro (C); temperaturas nas extremidades (D) próximas aos furos) do painel dos silos na silagem de RMT.

As amostras coletadas para determinação da composição bromatológica foram secas em estufa com ventilação forçada a 55 °C por 72h. Em seguida, foram moídas

individualmente em moinho tipo Willey utilizando peneira de malha de 1 mm para determinação do teor de MS (método 934.01; AOAC, 1990), proteína bruta (PB) pelo método DUMAS (FP-528, Leco, EUA) (Wiles et al., 1998), cinza (método número 924.05; AOAC, 1990), extrato etéreo (EE) (método número 920.85; AOAC, 1990); Fibra detergente neutro (FDN) com alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio, para posterior realizar a análise sequencial de fibra em detergente ácido (FDA), segundo Van Soest et al. (1991), modificado para o Ankom A200 “Fiber Analyzer” (Mertens, 2002). A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi avaliada de acordo com a metodologia proposta por Tilley e Terry (1963) e adaptada para ANKOM (Holden 1999).

O teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) da RMT (antes e depois da ensilagem) foi determinado por calorimetria seguindo o procedimento descrito por Chaney e Marbach (1962) adaptado para amostras de silagem. O valor do pH foi medido com um medidor de pH digital (PG 1400, Gehaka - Brasil) segundo Kung Jr et al. (2000).

A contagem microbiana foi realizada em extrato aquoso seguindo a metodologia descrita por Kung Jr et al. (1984). Os extratos aquosos utilizados para plaqueamento foram preparados em sacos plásticos estéreis contendo 25 g de amostra e 225 ml de solução ringer (25%) que foram homogeneizados por 4 minutos em agitador mecânico tipo Stormacher (Marconi-MA 440 / CF) seguido por uma filtração com gaze. Os extratos aquosos foram submetidos a diluições em série (10 vezes) em solução ringer a 25% e plaqueados em 3M™ Petrifilm™. A contagem das bactérias do ácido láctico (BAL) foi realizada em Petrifilm™ AC, após incubação a 32 °C por 48 h em jarras anaeróbios. A contagem de leveduras e bolores foi feita em Petrifilm™ YM após incubação a 25 °C por 72 h e 120 h, respectivamente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos (fardos com ou sem furos no filme plástico de vedação) e quatro repetições. A distribuição e a

normalidade dos dados foram avaliadas e as variáveis que não apresentaram distribuição normal (contagens microbianas) foram transformadas em log da base 10. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) utilizando modelo linear generalizado (Procedimento GLIMMIX) do SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2 – 2001) a 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$).

4.3 RESULTADOS

O tamanho das partículas da ração em mistura total momentos antes da ensilagem ficou distribuído nas seguintes proporções: 30% com tamanho >19 mm; 29% com tamanho >8 mm e <19 mm; 28,5% com tamanho >1.18 mm e <8 mm; e 12,5% com tamanho <1.18 mm.

As diferenças no teor de MS e na recuperação do MS entre os tratamentos ($P < 0,01$ e $P < 0,05$, respectivamente), estão apresentadas na Tabela 2. A presença de furos no filme plástico de vedação acarretou leve redução no teor de MS e uma menor recuperação de MS em relação ao tratamento sem furos. Para as variáveis bromatológicas (PB, FDN, FDA, DIVMS, Cinza, EE e N-NH₃), não foram detectados efeitos dos tratamentos.

Os furos no filme plástico de vedação não interferiram nas contagens das bactérias ácido láctico (BAL), levedura e bolores da silagem de RMT quando comparados com os fardos intactos (Tabela 3).

Tabela 2. Teor de MS, recuperação de MS e composição bromatológica da silagem de RMT ensilada por 60 dias com ou sem furos no filme plástico de vedação.

Variáveis (g kg ⁻¹)	Com furos	Sem furos	EPM ²	P valor
Matéria seca (MS)	413,7	417,6	0,32	<0,01
Recuperação de MS	985,0	994,7	2,20	≤0,02
Proteína bruta	156,8	157,6	0,38	0,17
Fibra em detergente neutro	366,1	370,4	2,29	0,23
Fibra em detergente ácido	191,0	193,2	0,69	0,07
Digestibilidade <i>in vitro</i> MS	845,7	845,4	2,84	0,94
Cinzas	72,6	72,5	0,67	0,94
Extrato etéreo	28,3	28,2	0,44	0,88
Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) ¹	176,2	174,6	0,98	0,31

¹ Nitrogênio amoniacal está representado em g kg⁻¹ do nitrogênio total

² Erro padrão da média

** Significativo (P ≤ 0.01)

* Significativo (P ≤ 0.05)

Tabela 3. Contagens microbianas na silagem de RMT ensilada por 60 dias com ou sem furos no filme plástico de vedação.

Contagem microbiana (log ufc g ¹)	Com furos	Sem furos	EPM ¹	P valor
Bactérias ácido lácticas	6,90	6,95	0,06	0,58
Leveduras	2,52	2,51	0,08	0,92
Bolores	2,45	2,32	0,06	0,18

¹ Erro padrão da média

A dinâmica de temperatura no interior dos fardos de silagem RMT, com ou sem furos no filme plástico de vedação foi muito semelhante e não apresentou diferença (P > 0,05) entre os tratamentos (Figura 2). Nos primeiros 25 dias, a temperatura interna dos fardos foi maior (> 22 °C) do que a temperatura ambiente (μ 18 °C). No entanto, nenhum aquecimento foi detectado desde o processo de ensilagem entre os tratamentos. Após esse período, a temperatura interna dos fardos de silagem de RMT (μ 21 °C) foi semelhante à temperatura ambiente (μ 20 °C) para ambos os tratamentos.

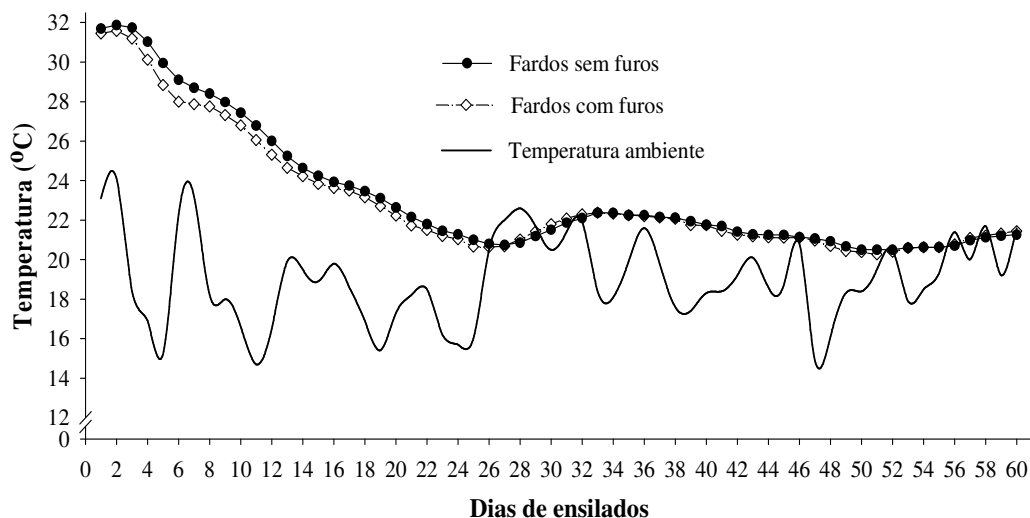


Figura 2. Temperatura ambiente e temperatura média no interior dos silos da silagem de RMT armazenados por 60 dias com ou sem furo no filme plástico de vedação.

Não houve diferença significativa na variação da temperatura (Δt) entre fardos com e sem furos no filme plástico de vedação (Tabela 4). Isso significa que, após 60 dias de armazenamento, a temperatura média no centro dos fardos era semelhante à temperatura média das bordas. A presença de furos durante 50 dias de armazenamento não influenciou essa medida, mesmo nas temperaturas medidas próximas as regiões dos furos. No entanto, os valores de pH (Tabela 4) apresentaram um pequeno aumento ($P < 0,01$) na silagem de RMT submetida aos furos no filme plástico de vedação.

Tabela 4. Temperatura média no centro, nas extremidades e o delta médio (Δt) obtidos das imagens termográfica do painel dos silos no momento da abertura dos silos de RMT

Temperatura média (°C)	Com furo	Sem furo	SEM ¹	P valor
Extremidade	23,94	22,49	0,49	0,08
Centro	23,43	21,93	0,47	0,07
Δt ²	0,51	0,57	0,13	0,75
pH	4,38	4,24	0,03	<0,01

¹ Erro padrão da média

² Delta médio (temperatura média das extremidades - a temperatura média do centro)

** Significativo ($P \leq 0.01$)

4.4 DISCUSSÃO

O adequado tamanho das partículas da silagem ajuda no processo de fermentação, otimiza a densidade de compactação, minimiza a porosidade da silagem, previne a deterioração aeróbica (Bernardes et al., 2018) e influencia o consumo dos animais. O menor tamanho de partícula das forragens estimula o consumo de ração e aumenta a taxa de passagem de alimento (Van Soest et al., 1991; Oelberg, 2011; Rossow e Aly, 2013). Por outro lado, estudos mostram que vacas ao consumirem dietas com teores adequados de FDN, porém excessivamente picadas, apresentam distúrbios metabólicos como menor digestibilidade da MS, redução do teor de gordura no leite, deslocamento do abomaso, laminite e acidose (Yang e Beauchemin, 2006; Zebeli et al., 2006; Zebeli et al., 2008).

Lammers (1996) e Kononoff et al. (2003), comentam que a distribuição adequada dos tamanhos das partículas para a silagem de milho e para a RMT variam, contudo nas peneiras com tamanho de partículas >19 mm (peneira 1), as proporções devem estar entre: 3 – 8%; e 2 – 8%, respectivamente; nas peneiras com tamanho de partículas >8 a 19 mm (peneira 2), as proporções devem estar entre: 45 – 65%; e 30 – 50%, respectivamente; nas peneiras com tamanho de partículas >1,18 a 8 mm (peneira 3), as proporções devem estar entre: 30 – 40%; e 30 – 50%, respectivamente; e no ultimo compartimento (partículas <1,18 mm), as proporções devem ser <5%; e <20%, respectivamente. As proporções das três menores peneiras (>8 a 19; >1,18 a 8; e <1,18 mm) recomendados por Lammers (1996) para a RMT, foram semelhantes aos encontrados no presente estudo, no entanto, para as proporções encontradas na peneira 1 (partículas >19 mm) os valores no presente estudo foram maiores (30%) que o recomendado (2 a 8%).

Muck et al. (2013) afirmam que a importância da avaliação do tamanho de partícula nas silagens não deve ser subestimada, pois além dos fatores relacionados aos animais, afeta diretamente a porosidade, densidade, produção de efluentes, fermentação e indiretamente a

deterioração aeróbia do silagens. Senger et al. (2005), avaliando as diferentes densidades na silagem de milho (350 a 700 kg de matéria natural por m³), não observaram alterações nos níveis de MS, PB, FDA, FDN e DIVMS. No entanto, a maior densidade resultou em melhor fermentação, com maior teor de ácidos orgânicos e menor pH da silagem.

Os valores de tamanho de partícula e a presença de concentrados nas silagens de RMT levam a uma alta densidade específica de 370 kg de MS m³. Segundo McDonald et al. (1991) e Holmes (2009), em silagens tradicionais de forragens (milho, cana-de-açúcar, sorgo), a densidade específica permanece abaixo de 250 kg de MS por m³. Essa diferença (± 120 kg de MS por m³) ajuda a entender por que os furos no filme plástico de vedação não causaram grande impacto no teor de MS, recuperação de MS, composição química-bromatológica e nas contagens microbianas.

Diferença significativa entre os tratamentos foi detectada para o teor de MS e a recuperação de MS na silagem de RMT (Tabela 2). No entanto, a magnitude das diferenças foi muito pequena. O tratamento com furos no filme plástico de vedação apresentou alto valor de recuperação de MS (985,0 g kg⁻¹), o que significa que os furos não causaram desaparecimento expressivo da MS, em comparação ao tratamento sem furos, cuja recuperação de MS foi de 994,7 g kg⁻¹. Contudo, a falta de efeito negativo mais pronunciado dos furos no filme plástico de vedação na silagem de RMT está provavelmente relacionada com o alto valor da massa específica (370 kg de MS m⁻³), o alto teor de MS da ração (417,8 g kg⁻¹) e o tamanho de partícula médio adequado (41% com tamanho de partícula <8mm). Esses três fatores estão inter-relacionados e dificultam o fluxo de gases dentro da silagem, inibindo a proliferação de microrganismos oportunistas (Hong, 1991; McDonald et al., 1991).

Hu et al. (2015) avaliaram a inclusão de bagaço de pêssgo na silagem de RMT e encontraram recuperação de MS de 974,5 g kg⁻¹ de MS após 56 dias de ensilagem. Miyaji et al. (2013) ao avaliarem a substituição do milho por grãos de arroz integral encontraram uma

recuperação de matéria seca da silagem de RMT de 993,0 g Kg⁻¹ de MS. Segundo McDonald et al. (1991), a densidade do silo, a permeabilidade e a porosidade são propriedades interligadas que dependem do teor de umidade, das espécies forrageiras, do estágio de maturação da forragem e do tamanho das partículas. Quando esses fatores trabalham interligados, podemos criar um local favorável para o crescimento de microrganismos desejáveis e as perdas durante o processo de fermentação são reduzidas. Hong (1991) demonstrou que a redução de 20 kg de MS por m³ na massa específica da silagem dobrou o fluxo de ar entre a silagem e o ambiente, levando a maiores perdas. As silagens de RMT quando preparadas adequadamente parecem ser menos suscetíveis às perdas de MS mesmo sob manejo inadequado.

Os teores médios de PB, FDN, FDA, DIVMS, Cinzas, EE e N-NH₃ das silagens de RMT não foram influenciados pelos furos no filme plástico de vedação (Tabela 2). Novamente, o teor de MS, alta densidade específica, tamanho de partícula e a ausência do crescimento de microrganismos indesejáveis podem ter influenciado a estabilidade química-bromatológica.

A composição química-bromatológica das silagens de RMT foi similar à composição da RMT antes da ensilagem (Tabela 1). A ensilagem e o período de 60 dias de armazenamento da RMT levaram a um pequeno aumento na DIVMS (1,4%) e um aumento no N-NH₃ (11,3%), provavelmente devido a ocorrência de uma hidrólise ácida da hemicelulose do FDN, e a quebra de proteína dos ingredientes (ureia, farelo de soja e/ou farelo de glúten de milho).

Lee et al. (2011) avaliando os efeitos de probióticos contendo microrganismos anaeróbios e prebióticos suplementares nas características da fermentação *in vitro* e na taxa de desaparecimento *in situ* da silagem de RMT, descobriram que a concentração de amônia não foi modificada pelos inoculantes. No entanto, um aumento não significativo foi observado

durante o período de armazenamento, com valores de 29,8 g kg⁻¹ no primeiro dia de armazenamento, e 42,5 g kg⁻¹ no 21º dia. Segundo Liu et al. (2016), concentração de amônia inferior a 100 g kg⁻¹ é um indicativo de boa qualidade das silagens, entretanto, as maiores concentrações de NH₃-N observadas no presente estudo (μ 175,4 g kg⁻¹) não são indicativas de erros no processo fermentativo, ou da má conservação da silagem de RMT, podendo ser devida ao uso de ureia como ingrediente da RMT (Tabela 1).

A fermentação da silagem é altamente dependente dos microrganismos predominantes (Muck, 2013) e a penetração de oxigênio excessivo durante o processo fermentativo pode levar à degradação da proteína, ao calor excessivo e ao crescimento de leveduras e bolores (Kraut-Cohen et al., 2016). No momento que se inicia a ensilagem, todas as forragens contêm população epifítica composta por microrganismos aeróbios e anaeróbios, principalmente bactérias, leveduras e fungos. Quantificar essas populações antes da ensilagem e após a abertura do silo, tem por objetivo revelar qual foi a população de microrganismos que dominou o processo fermentativo da silagem.

Para a silagem RMT, os furos no filme plástico de vedação não afetaram as populações de BAL, leveduras e bolores (Tabela 3), porém, ao observar a contagem microbiana antes da ensilagem (Tabela 1) e após 60 dias armazenamento, nota-se um crescimento na população BAL e uma diminuição das leveduras e bolores. Isto demonstra que as BAL foram as predominantes durante o processo fermentativo da silagem de RMT, e dominaram o ambiente, o que é desejável pois auxiliaram para que houvesse baixo desaparecimento de MS e inexpressivas perdas qualitativas. Muck (2010), afirma que as BAL produzem o ácido lático como principal subproduto do metabolismo, contribuindo para rápida redução do pH da silagem, conseqüentemente, quanto mais rápida isso ocorre, menores são as perdas devido à inibição das enterobactérias, clostrídios e bacilos. No presente estudo, por

conter silagem de milho na mistura, a RMT já apresentava pH relativamente baixo (4,9) desde o início, o que contribuiu ainda mais para minimizar as perdas.

A elevada contagem de BAL nas silagens de RMT observada neste trabalho e na literatura (Wang e Nishino, 2008; Yuan et al., 2015), é resultado de três fatores: 1) tipo de microrganismos predominantes na fermentação; 2) substrato disponível para o crescimento microbiano e; 3) teor de umidade da silagem (Kung e Muck, 1997). Estes três fatores estão positivamente presentes na silagem de RMT, o que resultou em elevada contagem de BAL e pequenas perdas durante o processo de fermentação e armazenamento.

Durante a fase aeróbica no início do processo de produção de silagem, a temperatura desempenha um papel importante na taxa respiratória dos microrganismos presentes no material ensilado, e a maior parte do calor é retido na massa, resultando em aumento progressivo da temperatura (≥ 40 °C) e na taxa respiratória dos microrganismos aeróbicos (McDonald et al., 1991).

A medição da temperatura no centro dos fardos é uma informação importante, e mostrou que nos primeiros 5 dias de armazenamento das silagens de RMT, a temperatura permaneceu em torno de 30 °C (Figura 2). Do 5º ao 25º dia, observou-se uma diminuição progressiva da temperatura. Essa informação é importante e nos indica que a silagem RMT baseada em silagem de milho e com alto teor de MS (≥ 400 g kg⁻¹) precisa de pelo menos 25 dias de armazenamento para obter uma refermentação completa. Lee et al. (2011), avaliando probióticos e prebióticos na fermentação da silagem de RMT, encontraram aumento constante na temperatura (23, 23, 24, 24, 25 e 27 °C) durante o armazenamento (1; 3; 5; 7; 14 e 21 dias, respectivamente). Após 21 dias a temperatura atingiu um platô, seguido de diminuição, corroborando com a dinâmica observada no presente estudo.

A termografia infravermelha de alta sensibilidade detectou a radiação emitida na superfície interna do fardo (Figura 1), sendo uma ferramenta valiosa para detectar mudanças

mínimas na temperatura da superfície (Bouzida et al., 2009). Esses dados (Figura 1 e Tabela 4) demonstraram que não havia aquecimento decorrente de respiração microbiana na silagem de RMT em ambos os tratamentos, o que está em acordo com os valores de perdas bastante reduzidos. A ocorrência de respiração microbiana intensa produziria um cenário diferente, com altas perdas de MS através da emissão de CO₂ e aumento nas temperaturas da massa da silagem (McDonald et al., 1991).

O baixo pH da silagem atua no controle do crescimento de microrganismos indesejáveis durante o período de armazenamento. Wang e Nishino (2008), avaliando os efeitos da infiltração de ar (200 ml de ar em 300 g de silagem) na silagem de RMT com feno de sorgo, encontram diferença significativa para o valor de pH. A silagem de RMT sem infiltração de ar apresentou valores de pH de 4,4 e 4,2 quando armazenadas por 14 e 56 dias respectivamente, contudo, quando houve infiltração de ar os valores de pH foram de 4,5 e 4,3, respectivamente aos períodos de armazenamento, corroborando com as respostas encontradas no presente estudo, e os autores concluíram que a infiltração de ar na silagem de RMT durante o armazenamento pode reduzir a estabilidade aeróbica.

Comparando os valores de pH da silagem de RMT no presente estudo (Tabela 4) com os encontrados na literatura é possível considerar valores aceitáveis que variem entre 4,0 e 5,0. Segundo Yang et al. (2011) e Liu et al. (2011), em silagens de RMT com teor de MS mais elevado, valores de pH entre 4,0 a 5,0 são aceitáveis pois são capazes de inibir o crescimento de microrganismos oportunistas durante o período de armazenamento.

Considerando as condições experimentais, a silagem de RMT armazenada por 60 dias mantém a composição química-bromatológica próxima aos valores iniciais da RMT, e algumas características como a elevada massa específica, o alto teor de MS e a predominância das BAL durante o processo fermentativo, auxiliaram para que o desaparecimento de MS

fosse bastante reduzido. Isso significa que a RMT pode ser armazenado na forma de silagem sem elevadas perdas.

4.5 CONCLUSÃO

Embora furos devam ser evitados no processo de vedação e armazenando da silagem, nas condições do presente ensaio dois furos de 25 cm² no filme plástico de vedação em fardos cilíndricos comerciais de 1.000 kg, não prejudicam o processo fermentativo e a qualidade da RMT ensilada.

4.6 REFERÊNCIAS

- Abdollahzadeh, F.; Pirmohammadi, R.; Fatehi, F. and Bernousi, I. 2010. Effect of feeding ensiled mixed tomato and apple pomace on performance of Holstein dairy cows. *Slovak Journal of Animal Science* 1:31-35.
- AOAC International. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC Internacional, Arlington, Virginia.
- Bernardes, T. F.; Daniel, J. L. P.; Adesogan, A. T.; McAllister, T. A.; Drouin, P.; Nussio, L. G.; Huhtanen, P.; Tremblay, G. F.; Bélanger, G. and Cai, Y. 2018. *Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions*. *J. Dairy Sci.* 101:4001–4019.
- Bouzida, N.; Bendada, A. and Maldague, X. P. 2009. Visualization of body thermoregulation by infrared imaging. *Journal of Thermal Biology* 34:120-126.
- Chaney, A. L. and Marbach, E. P. 1962. Modified Reagents for Determination of Urea and Ammonia. *Clinical Chemistry* 8:130.
- Chen, L.; Guo, G.; Yu, C.; Zhang, J.; Shimojo, M. and Shao, T. 2015. The effects of replacement of whole-plant corn with oat and common vetch on the fermentation quality, chemical composition and aerobic stability of total mixed ration silage in Tibet. *Animal Science Journal* 86:69-76.
- Driehuis, F.; Elferink, S. J. W. H. O. and Spoelstra, S. F. 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of Applied Microbiology* 87:583-594.
- Dunière, L.; Sindou, J.; Chaucheyras-Durand, F.; Chevallier, I. and Thévenot-Sergentet, D. 2013. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology* 182:1-15.
- Holden, L. A. 1999. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. *Journal Dairy Science* 82:1791-1794.

- Holmes, B. J. 2009. Software applications for sizing silos to maximize silage quality. Pages 189–208 in Proc. Intl. Symposium. Forage Quality Conservation., Piracicaba, Brazil. University of São Paulo, Piracicaba, Brazil.
- Honig, H. 1991. Reducing losses during storage and unloading of silage. In PAHLOW, G; HONIG, H (Eds). Forage conservation towards 2000. 1^{ed}. Braunschweig: European Grassland Federation 1:116-128.
- Hu, X.; Hao, W.; Wang, H.; Ning, T.; Zheng, M. and Xu, C. 2015. Fermentation Characteristics and Lactic Acid Bacteria Succession of Total Mixed Ration Silages Formulated with Peach Pomace. *Asian-Australas J Anim Sci* 28:502-510.
- Ishida, K.; Yani, S.; Kitagawa, M.; Oishi, K.; Hirooka, H. and Kumagai, H. 2012. Effects of adding food by-products mainly including noodle waste to total mixed ration silage on fermentation quality, feed intake, digestibility, nitrogen utilization and ruminal fermentation in wethers. *Animal Science Journal* 83:735-742.
- Jobim, C. C.; Nussio, L. G.; Reis, R. A. and Schmidt, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia* 101-119.
- Kononoff, P. J.; Heinrichs, A. J.; Lehman, H. A. 2003. The Effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*. 86:3343–3353.
- Kraut-Cohen, J.; Tripathi, V.; Chen, Y.; Gatica, J.; Volchinski, V.; Sela, S.; Weinberg, Z. and Cytryn, E. 2016. Temporal and spatial assessment of microbial communities in commercial silages from bunker silos. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100:6827-6835.
- Kung, L. and Muck, R. 1997. In Proceedings of the Conference on Silage: Field to Feed Bunk. North American Conference Hershey, PA. NRAES-99. Northeast Regional Agricultural Engineering Services, Ithaca, NY.
- Kung, L.; Robinson, J. R.; Ranjit, N. K.; Chen, J. H.; Golt, C. M. and Pesek, J. D. 2000. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative¹. *Journal of Dairy Science* 83:1479-1486.
- Lammers, B.P.; Buckmaster, D.R.; Heinrichs, A.J. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *Journal of Dairy Science* 79:922-928.
- Lee, S.-J.; Shin, N.-H.; Chu, G.-M. and Lee, S.-S. 2011. Effects of synbiotics containing anaerobic microbes and prebiotics on in vitro fermentation characteristics and in situ disappearance rate of fermented-TMR. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24:1577-1586.
- Liu, Q. H.; Li, X.-Y.; Desta, S. T.; Zhang, J.-G. and Shao, T. 2016. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and in vitro digestibility of total mixed rations silage including rape straw. *Journal of Integrative Agriculture* 15:2087-2096.
- McDonald, P.; Henderson, A. R. and Heron, S. 1991. The biochemistry of silage. 2nd ed. Holcombe Publications, Marlow.
- Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal AOAC Institution* 85:1217-1240.

- Miyaji, M.; Matsuyama, H.; Hosoda, K. and Nonaka, K. 2013. Milk production, nutrient digestibility and nitrogen balance in lactating cows fed total mixed ration silages containing steam-flaked brown rice as substitute for steam-flaked corn, and wet food by-products. *Animal Science Journal* 84:483-488.
- Miyaji, M. and Ninaka, K. 2018. Effects of altering total mixed ration conservation method when feeding dry-rolled versus steam-flaked hulled rice on lactation and digestion in dairy cows. *Journal Dairy Science* 101:1-10.
- Monitoramento agrometeorológico da região de Castro/PR - Maracanã. Disponível em:< <http://sma.fundacaoabc.org/>>. Acesso em 10 dez. de 2015.
- Muck, R. E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:183-191.
- Muck, R. E. 2013. Recent advances in the silage microbiology. *Agriculture and Food Science* 22:3-15.
- Nishino, N., Hattori, H., Wada, H., Touno, E. 2007. Biogenic amine production in grass, maize and total mixed ration silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Applied Microbiology*. 103:325–332.
- NRC – National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition, 2001*. ed. National Academies Press, Washington, DC.
- Oelberg, T. 2011. P. 81-86. In: Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop. Grantville, PA.
- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F.; Oude Elferink, S. J. W. H. and Spoelstra, S. F. 2003. p.31-94. In: *Microbiology of ensiling*. Buxton DR, Muck RE and Harrison JH, ed. Madison.
- Rossov, H. A. and Aly, S. S. 2013. Variation in nutrients formulated and nutrients supplied on 5 California dairies. *Journal of Dairy Science* 96:7371-7381.
- Sova, A. D.; Leblanc, S. J.; McBride, B. W. and Devries, T. J. 2014. Accuracy and precision of total mixed rations fed on commercial dairy farms. *Journal of Dairy Science* 97:562-571.
- Tilley, J. M. A. and Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science* 18:104-111.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74:3583-3597.
- Wang, F. and Nishino, N. 2008. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88:133-140.
- Wiles, P. G.; Gray, I. K. and Kissling, R. C. 1998. Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. *Journal of AOAC International* 81:620-632.
- Yang, W.Z.; Beauchemin, K.A. 2006. Increasing the physically effective fiber content of dairy cow diets may lower efficiency of feed use. *Journal of Dairy Science* 89:2694-2704.

- Yuan, X.; Guo, G.; Wen, A.; Desta, S. T.; Wang, J.; Wang, Y. and Shao, T. 2015. The effect of different additives on the fermentation quality, in vitro digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. *Animal Feed Science and Technology* 207:41-50.
- Zebeli, Q.; Tafaj, M.; Steingass, H. Metzler, B, Drochner, W. 2006. Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. *Journal of Dairy Science* 89:651-668.
- Zebeli, Q.; Dijkstra, J.; Tafaj, M.; Steingass, H.; Ametaj, BN.; Drochner, W. 2008. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *Journal of Dairy Science* 91:2046-2066.

5.0 PERCEPÇÃO DOS PRODUTORES SOBRE A TÉCNICA DA ENSILAGEM DA RAÇÃO EM MISTURA TOTAL

RESUMO:

A comercialização da ração em mistura total (RMT) ensilada, pronta para ser fornecida aos ruminantes está surgindo no Brasil com o intuito de auxiliar os produtores que por algum motivo não são eficientes em produzir alimento de qualidade e em quantidade para os seus rebanhos. O presente trabalho teve como objetivo investigar o interesse e o conhecimento dos produtores de leite sobre a comercialização da silagem de RMT, bem como avaliar quais as vantagens e desvantagens esta tecnologia pode proporcionar as fazendas que já estão utilizando, através de um questionário exploratório *online* e de uma pesquisa descritiva-quantitativa presencial. O trabalho foi realizado em duas etapas. A primeira etapa foi realizada com o auxílio de veículos de divulgação voltados a bovinocultura leiteira, que disponibilizaram um questionário exploratório *online* para respostas voluntárias de produtores de leite de todo o Brasil. A segunda etapa do trabalho foi realizada através da aplicação de questionário descritivo-quantitativo presencial, em fazendas que já utilizam a técnica. As unidades de análise eram localizadas nas regiões dos Campos Gerais e Sudeste do estado do Paraná, e no Vale do Paraíba no estado de São Paulo. As entrevistas foram respondidas por livre e espontânea vontade e tiveram duração máxima de 45 minutos. Para a análise de dados dos questionários utilizou-se a estatística descritiva PROC FREQ do software estatístico SAS. Foram obtidas 175 respostas referentes ao questionário *online*, e para o questionário presencial 12 fazendas foram visitadas. Uma relevante parcela (69%) dos produtores que participaram do questionário *online* nunca ouviu falar sobre a comercialização de RMT, ou não estão certos sobre isso. As regiões Sul e Sudeste do Brasil foram as que mais participaram da pesquisa, e o sistema de produção à pasto está presente em 67% das propriedades que participaram do questionário *online*. Nas 12 fazendas entrevistadas presencialmente, a comodidade e a diminuição na mão de obra são as principais vantagens da aquisição da silagem de RMT. Porém o elevado custo da dieta e do transporte até a fazenda foram as principais desvantagens apontadas. Através dos resultados obtidos, podemos concluir que a maior parte dos produtores de leite no Brasil nunca ouviu falar sobre a comercialização de RMT na forma de silagem, mas têm interesse em conhecer mais sobre o assunto, independente do sistema produção, região e do tamanho do rebanho. Nas fazendas que estão utilizando a silagem de RMT como principal fonte de alimento para os ruminantes, foram enumeradas várias vantagens e desvantagens; contudo, 11 dos 12 produtores entrevistados afirmaram que pretendem continuar usando essa técnica na fazenda, o que dá forte indicativo de um grande mercado potencial para crescimento da comercialização da silagem de RMT em nosso país.

Palavras chave:

Comercialização da RMT ensilada, produtores de leite, questionário, questionário *online*.

5.1 INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro é um dos setores que mais gera emprego e renda ao nosso país. No entanto, segundo o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea), da Esalq/USP, e a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), o valor bruto da produção (VBP) agropecuária no ano de 2017 caiu 2,7% em relação ano anterior, e o setor leiteiro que gerou 45.119 milhões de reais no ano de 2016, caiu para 44.610 milhões no ano de 2017 (CNA Brasil, Boletim VBP, fevereiro de 2018). Isso é um indicativo que a pecuária leiteira juntamente com os demais setores do agronegócio está passando por um momento difícil, de baixa lucratividade, o que causa desconforto aos produtores, e muitos acabam se desestimulando com a atividade.

Sabe-se que na bovinocultura leiteira, a alimentação representa a maior parte do custo da produção (Díaz-Royón, 2016). Contudo, formular e fornecer uma dieta bem balanceada com ingredientes de qualidade durante o ano todo, com baixo custo é um trabalho árduo e constante que necessita muito conhecimento e estratégias bem planejadas. Segundo Jobim et al. (2007), o emprego de novas tecnologias, adequadas à produção e conservação de alimentos pode ser um fator importante para se obter sucesso com a atividade leiteira, especialmente na conservação dos alimentos por meio da ensilagem.

Cada vez mais os produtores estão atentos a novas tecnologias que surgem com o intuito de melhorar a eficiência produtiva, diminuir mão de obra e aumentar a margem de lucro de suas atividades, sem degradar o meio ambiente. A comercialização de RMT ensilada é uma tecnologia que está surgindo em nosso país com o objetivo de auxiliar os produtores que por algum motivo não conseguem produzir alimento em quantidade e em qualidade para suprir a demanda do seu plantel. No Japão a possibilidade de produzir e ensilar a RMT surgiu por volta do ano de 2001, com objetivo de dar melhor aproveitamento a coprodutos úmidos que poderiam se tornar poluentes ambientais, usando-os na dieta dos ruminantes, sem alterar a qualidade da ração (Wang & Nishino, 2008, Miyaji et al., 2013), e desde então vêm se tornando cada vez mais popular sua utilização (Miyaji et al., 2018).

No Brasil as informações sobre a comercialização da RMT ensilada ainda são escassas, e produtores e indústrias estão procurando saber se esta tecnologia pode ser implementada com sucesso. Até o presente momento, apenas uma empresa comercializa silagem de RMT, porém novos projetos nessa área estão em desenvolvimento no Brasil.

Com o intuito de apontar o entendimento e possíveis vantagens e desvantagens que os produtores de leite do Brasil têm sobre essa nova tecnologia, o presente trabalho teve como

objetivo investigar o interesse e o conhecimento do público sobre a comercialização da silagem de RMT, bem como as vantagens e desvantagens que esta tecnologia proporciona nas fazendas que já estão utilizando, através de um questionário exploratório *online* e de uma pesquisa descritiva-quantitativa presencial.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado através de questionários, dividido em duas etapas. A primeira etapa contou com o auxílio de portais/revistas voltadas a bovinocultura leiteira, que disponibilizaram um questionário exploratório *online* aberto aos produtores de todo o Brasil, entre os meses de outubro e novembro de 2016. O principal objetivo era saber qual o nível de entendimento dos produtores de leite sobre a comercialização da RMT ensilada.

As unidades de análise foram constituídas por um universo de produtores de leite de todo o Brasil com acesso à internet e a sites técnicos, os quais participaram por livre e espontânea vontade, independente da região volume de leite e sistema de produção, perfazendo um total de 175 respondentes em 16 estados brasileiros, com 56% das respostas provenientes da região Sul; 31% da região Sudeste; 6% da Centro-Oeste; 5% da região Nordeste; e 3% da região Norte.

A segunda etapa da pesquisa foi constituída por um questionário exploratório descritivo presencial realizado nas fazendas que já estão utilizando a silagem de RMT. O projeto foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos do Setor de Ciências e Saúde da Universidade Federal do Paraná (parecer CEP/SD-PB número 1.671.708 na data de 10/08/2016).

Após o parecer favorável, o projeto foi iniciado em setembro e concluído em novembro de 2016. As unidades de análise foram constituídas por produtores de leite que utilizam a silagem de RMT em suas fazendas, localizadas nas regiões dos Campos Gerais e Sudeste do estado do Paraná (n=9) e no Vale do Paraíba no estado de São Paulo (n=3) perfazendo um total de 12 fazendas, o que constituiu o universo de amostra pretendida do referido estudo.

As 12 fazendas foram contatadas previamente para agendamento das entrevistas, as quais foram conduzidas *in loco*, e privativamente. O instrumento de coleta dos dados foi constituído por um protocolo, com entrevista semiestruturada, constituída de perguntas que

auxiliaram principalmente na organização sequencial dos questionamentos e na busca para o atendimento dos objetivos propostos do estudo.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A) foi inicialmente apresentado para a realização da pesquisa e solicitada a concordância e assinatura do respondente para a continuação da coleta. Neste termo ficou claro, e assegurado a escolha por parte do entrevistado em participar ou não desta pesquisa e que o mesmo não teria nenhuma implicação negativa caso ele mudasse de ideia e, posteriormente, caso não estivesse se sentindo à vontade, poderia deixar de participar mesmo que tivesse concordado. Também ficaram esclarecidas as condições de sigilo e confidencialidade da identidade do entrevistado. As entrevistas foram respondidas por livre e espontânea vontade e tiveram duração máxima de 45 minutos, seguindo o ritmo estabelecido pelo entrevistado.

Com as informações do questionário presencial foi calculada a eficiência de produção de cada propriedade apresentadas na Tabela 2 (kg de RMT ensilada necessária para produzir um kg de leite), através da divisão do consumo diário de silagem de RMT (kg) pela produtividade média (kg/leite/dia) do rebanho.

Para a análise dos dados gerados pelos questionários *online* e presencial, utilizou-se a estatística descritiva do SAS University Edition (2018), e as frequências observadas (%) foram apresentadas em formato de Gráficos e Tabelas.

5.3 RESULTADO E DISCUSSÕES

Na Figura 1 está apresentada a distribuição (n=175) do conhecimento dos produtores sobre a possibilidade de comercialização de RMT ensilada. Apenas 31% dos produtores que participaram do questionário *online* já ouviram falar da comercialização da silagem de RMT e o restante nunca ouviu falar sobre esse assunto, ou ouviram alguma coisa, porém não sabem ao certo o que significa. Isso mostra que essa possibilidade ainda é desconhecida para um grande número de produtores, provavelmente por ser bastante recente. Parré et al. (2011), ao identificar índices zootécnicos, e aspectos sociais dos produtores da região sudoeste do Paraná, concluíram que fazendas que utilizam novas tecnologias na grande maioria das vezes também possuem os maiores níveis de produtividade e lucratividade, e os mais organizados mecanismos de gestão e capacitação.

Segundo Vilela et al. (2002) e Lopes Junior et al. (2012), o setor de bovinocultura leiteira vêm melhorando, porém, nota-se que ainda existe alguns obstáculos que precisam ser

melhorados, e o conhecimento e a troca de experiências de sucesso entre produtores, empresas, laticínios e consumidores, devem ser praticados diariamente de forma clara e transparente para se obter melhores resultados com a atividade leiteira, principalmente em momentos de crise.

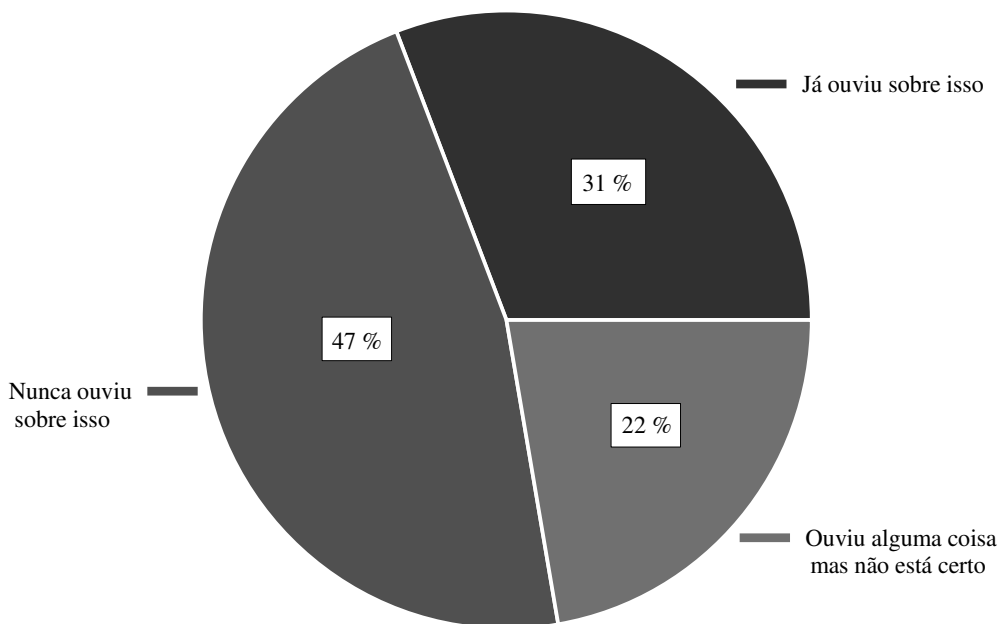


Figura 1. Conhecimento dos produtores que participaram do questionário *online* sobre a possibilidade de comercialização da RMT ensilada.

Na Figura 2 podemos observar que 90% dos produtores demonstram interesse em saber mais sobre a técnica, e 51% afirmaram que poderiam vir a utilizar esta tecnologia. Isso demonstra o interesse em conhecer mais sobre o assunto, e um grande mercado consumidor com potencial de experimentar essa tecnologia em seus rebanhos bovinos.

De acordo com Bandeira (2014), existem inúmeros estabelecimentos leiteiros com produção familiar, os quais adotam um sistema de produção menos intensivos, devido à falta de conhecimento ou não aceitam novas tecnologias. Para esses produtores, o grande desafio é continuar crescendo e, ao mesmo tempo, promover a profissionalização dos segmentos de produção para melhorar a produtividade, e a eficiência produtiva, bem como treinar um sucessor para a atividade. Para essa categoria de produtores a terceirização da produção de alimentos mediante aquisição de RMT ensilada poderia ser uma alternativa interessante, que pode auxiliar no aumento da produtividade, através da disponibilidade de uma dieta

balanceada e de qualidade constante, sem alterar as condições e as características típicas da agricultura familiar.

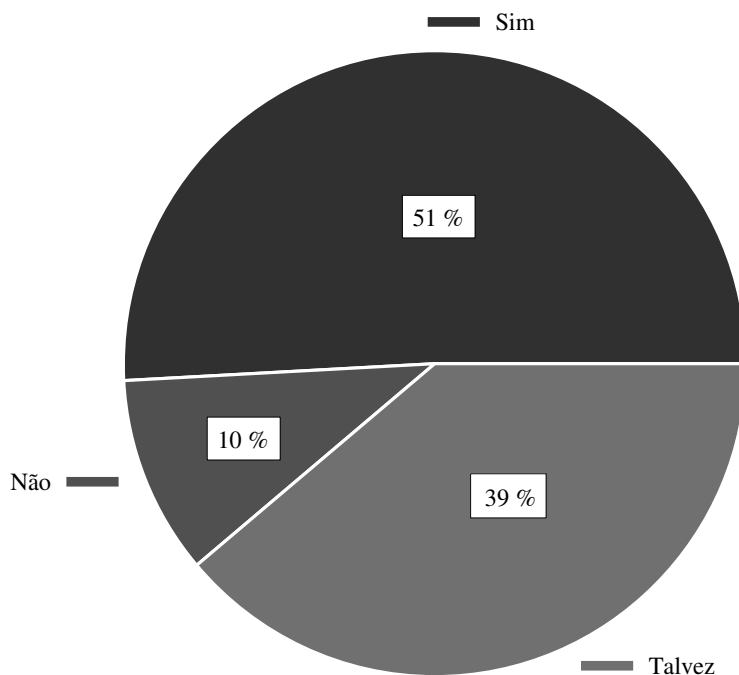


Figura 2. Distribuição de frequências dos respondentes à pergunta: Você acha que a RMT ensilada poderia vir a ser utilizada em sua fazenda?

Observa-se na Figura 3, que 28% dos produtores que responderam ao questionário *online* utilizariam a silagem de RMT por até 3 meses; 43% deles utilizariam a silagem de RMT entre 3 a 6 meses; e 29% utilizaria essa tecnologia por mais de 6 meses no ano. No entanto, essas respostas são dependentes de vários fatores, dentre eles: a região que se encontra a fazenda, o preço do litro do leite pago ao produtor, o preço para aquisição da RMT ensilada, o custo do transporte (frete) até a fazenda, e a necessidade que a fazenda tem por alimentos adicionais.

Nos sistemas de produção onde a pastagem é a principal fonte de alimento, os piores momentos são no final do ciclo das culturas, os quais ocorrem geralmente no final de inverno, início da primavera e no final de verão, início do outono, quando as pastagens de inverno e verão estão no final de seus ciclos, também conhecido como períodos de entressafra ou vazio forrageiro (Zago, 1997), ou quando ocorrem problemas climáticos. Nessas situações, a aquisição de RMT ensilada pode se tornar uma alternativa interessante.

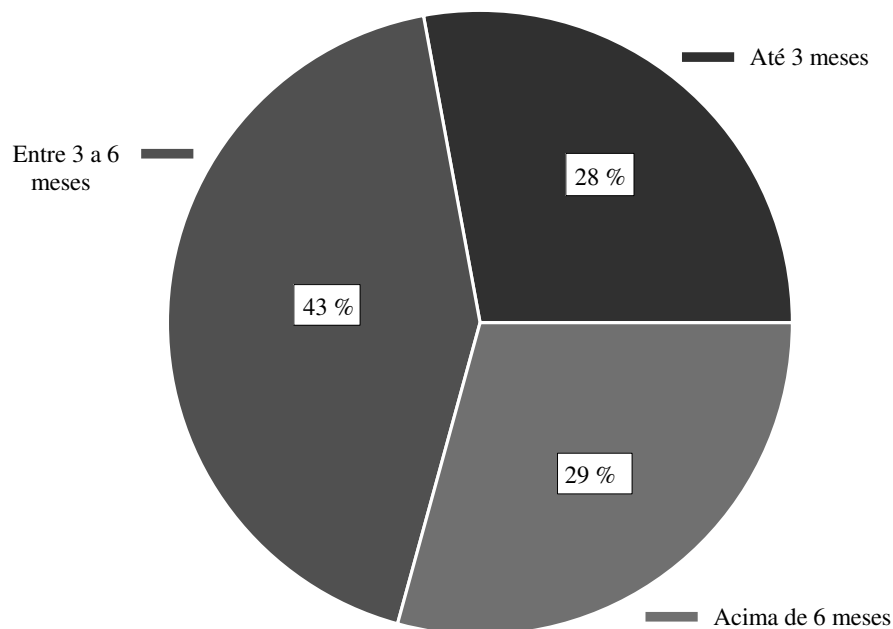


Figura 3. Distribuição de frequências dos respondentes à pergunta: Em caso afirmativo, para a comercialização da RMT ensilada, quantos meses do ano você acredita que poderia usá-la?

Na Figura 4 está representado a distribuição produtividade média de leite (kg/vaca/dia) no rebanho informado pelos produtores que participaram da pesquisa *online*. Como podemos observar, 20% dos produtores informaram uma produtividade média de até 15 kg de leite/vaca/dia; 33% com uma produtividade média entre 16 e 20 kg de leite/vaca/dia; 29% com uma produtividade média entre 21 e 25 kg de leite/vaca/dia; 15% com produtividade média entre 26 e 30 kg de leite/vaca/dia; e 3% com uma produtividade média acima de 30 kg de leite/vaca/dia.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção média de kg de leite/vaca/dia no Brasil no ano de 2016 foi de 5.7 kg, um crescimento de 4,2% em relação à observada no ano 2015 (IBGE, 2018). No entanto sabemos que essa produtividade precisa ser melhorada, e quando comparamos com as respostas encontradas no presente estudo, nota-se uma ampla diferença. Uma possível justificativa a essa diferença na produção média de kg de leite/vaca/dia pode estar relacionada diretamente com o trabalho de Parré et al. (2011), onde os autores concluíram que em as fazendas com os maiores níveis de produtividade são as que possuem um maior nível tecnológico, possuem um mecanismos de gestão, têm acesso a recursos e a novas tecnologias, estão em constante capacitação e

possuem assistência técnica. O questionário *online*, distribuído aos produtores de todo o Brasil através do auxílio de portais/revistas focadas na bovinocultura leiteira atinge produtores com acesso à pelo menos internet, o que pode ter excluído da avaliação produtores em condições de isolamento de acesso à informação e tecnologias básicas.

A produtividade média do rebanho leiteiro pode não ser referência de lucro, mas para que a atividade seja cada vez mais competitiva e atraente, a melhora na eficiência produtiva do rebanho é fundamental e necessária. De acordo com Parré et al. (2011) e Bandeira (2014), vários são os fatores que podem auxiliar para melhorar a produtividade média do plantel, dentre eles: quantidade e qualidade do alimento oferecido aos animais, intervalo entre partos, genética e sanidade do plantel, manejo dos animais, e principalmente o bem-estar dos animais e das pessoas que trabalham na atividade.

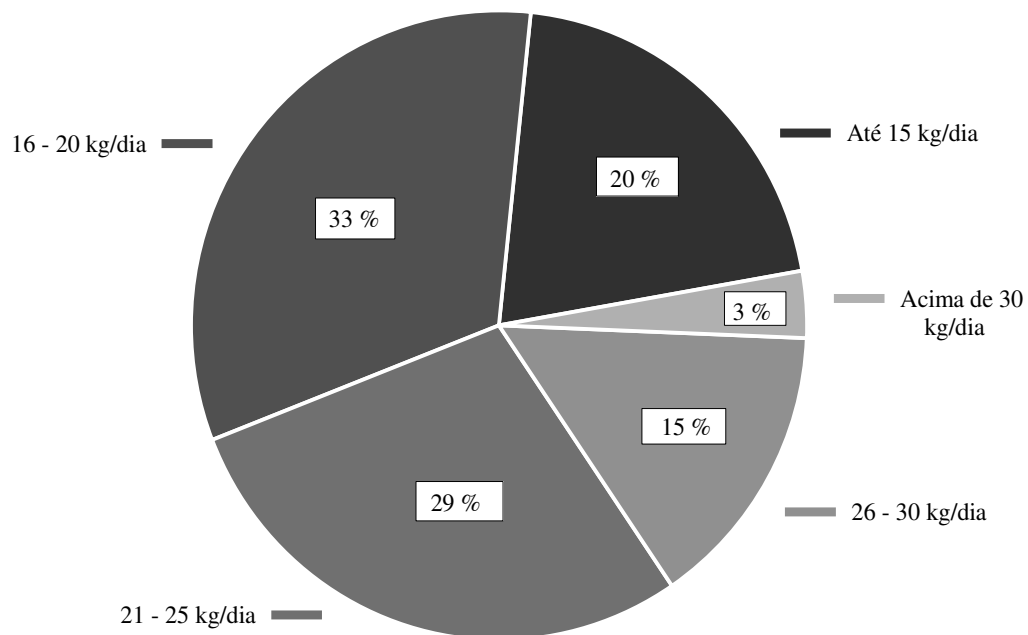


Figura 4. Produtividade média de leite (kg/vaca/dia) informada pelos produtores que participaram da pesquisa *online*.

A agricultura familiar representa uma parte significativa da produção agrícola nacional, e na atividade leiteira esse cenário não é diferente. Como podemos observar na Figura 5, 66% dos produtores respondentes possuem até 50 vacas em lactação, os quais podem ser

considerados com atividade familiar; 22% possuem de 51 a 100 vacas em lactação; 9% possuem de 101 a 200 vacas em lactação; e 3% possuem acima de 200 vacas em lactação.

O termo agricultura familiar segundo Oliveira e Silva (2013) é designado a uma variedade de atores que têm em comum a atividade agrícola e a utilização predominante do emprego de mão de obra familiar, sendo a pecuária leiteira historicamente uma atividade de grande relevância para a geração de emprego e renda para esses agricultores. De acordo com Oliveira e Silva (2012), os agricultores familiares são responsáveis por mais de 50% do leite produzido no país. Altafin et al. (2011) complementam que a atividade leiteira no Brasil é praticada em todas as regiões e está presente em aproximadamente 800 mil a 1,2 milhões de propriedades rurais, das quais 80% são unidades de produção familiar, corroborando com as respostas do presente estudo, onde 66% dos produtores possuem até 50 animais em lactação.

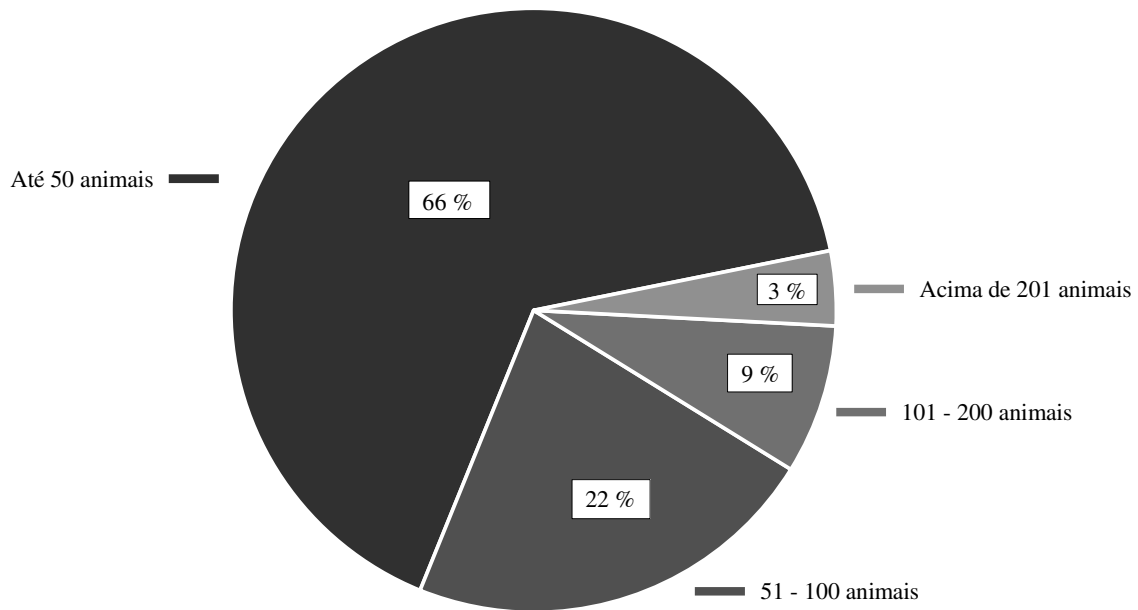


Figura 5. Número de animais em lactação nos rebanhos dos produtores que participaram do questionário *online*.

A produção de leite a pasto preconiza o baixo custo de produção, e o Sul do país, situado em uma região privilegiada devido sua latitude, permite a utilização de espécies forrageiras tropicais, subtropicais e temperadas, o que facilita a adoção deste sistema durante quase o ano todo com baixo custo na alimentação animal (Picoli et al., 2015). Na Figura 6 observa-se que 67% dos produtores que participaram do questionário *online* têm o sistema de

produção de leite principalmente à pasto; 25% têm o sistema de produção principalmente confinado; 6% em sistema semi-confinado; e 2% sistema de compost barn.

De acordo com Benedetti (2008) e Aguiar (2003), o sistema de produção de leite principalmente à pasto, é um dos sistemas mais utilizados pelos produtores, pois quando conduzido corretamente torna a atividade competitiva através do fornecimento de um alimento mais barato ao rebanho leiteiro, principalmente quando as pastagens são manejadas intensivamente, podendo apresentar custo alimentar por litro de leite entre 2 a 5 vezes inferior a outros alimentos; porém, exigem cuidados durante o ano todo.

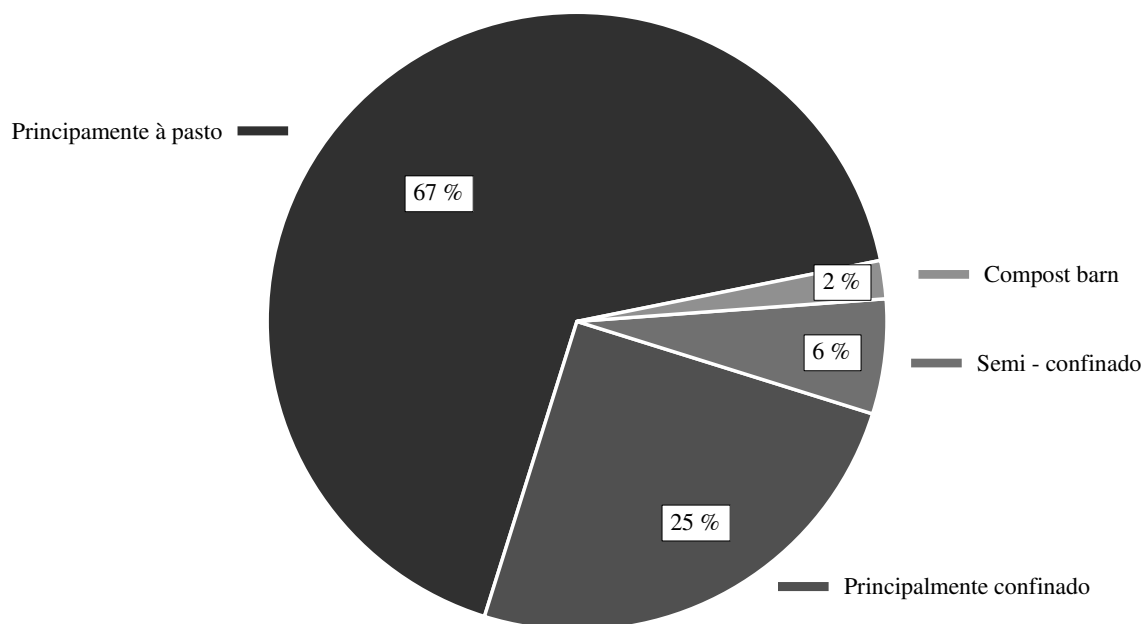


Figura 6. Principais sistemas de produção nas fazendas que participaram do questionário *online*.

Na Figura 7 estão apresentados os valores que os produtores respondentes estariam dispostos a pagar por tonelada de uma RMT ensilada, balanceada para vacas em lactação produzirem 25 kg de leite/dia, excluído o custo do frete. Para melhor padronização, os valores foram expressos em kg de leite por tonelada de silagem de RMT.

Trinte e seis por cento dos produtores afirmaram estar dispostos a pagar o equivalente a 135 kg de leite por uma tonelada de silagem de RMT (matéria natural); 42% dos respondentes pagariam até 270 kg de leite por tonelada da silagem de RMT; 15% pagariam até 400 kg de

leite por tonelada da silagem de RMT; 4% pagariam até 535 kg de leite por tonelada da silagem de RMT; e 3% pagariam até 670 kg de leite por tonelada da silagem de RMT na matéria natural. Uma vaca alimentada somente silagem de RMT, precisa consumir entorno de 1,5 a 1,8 kg de silagem de RMT na matéria natural para produzir 1 kg de leite segundo as informações extraídas nas fazendas que estão utilizando esta tecnologia como principal e única fonte de alimento (Tabela 2). Baseando-se nessas informações, uma tonelada de silagem de RMT retornaria em leite entorno de 667 a 556 litros ($1.000 \text{ kg de silagem de RMT} \div 1,5 \text{ kg} = 667 \text{ litros de leite}$ ou $1.000 \text{ kg de silagem de RMT} \div 1,8 \text{ kg} = 556 \text{ litros de leite}$), ou seja, os produtores que pagariam até 270 kg de leite por tonelada da silagem de RMT, teriam um custo somente com a alimentação entre 41 à 49% respectivamente ($270 \div 667 * 100 = 41\%$ ou $270 \div 556 * 100 = 49\%$), o que é um custo aceitável somente com a alimentação.

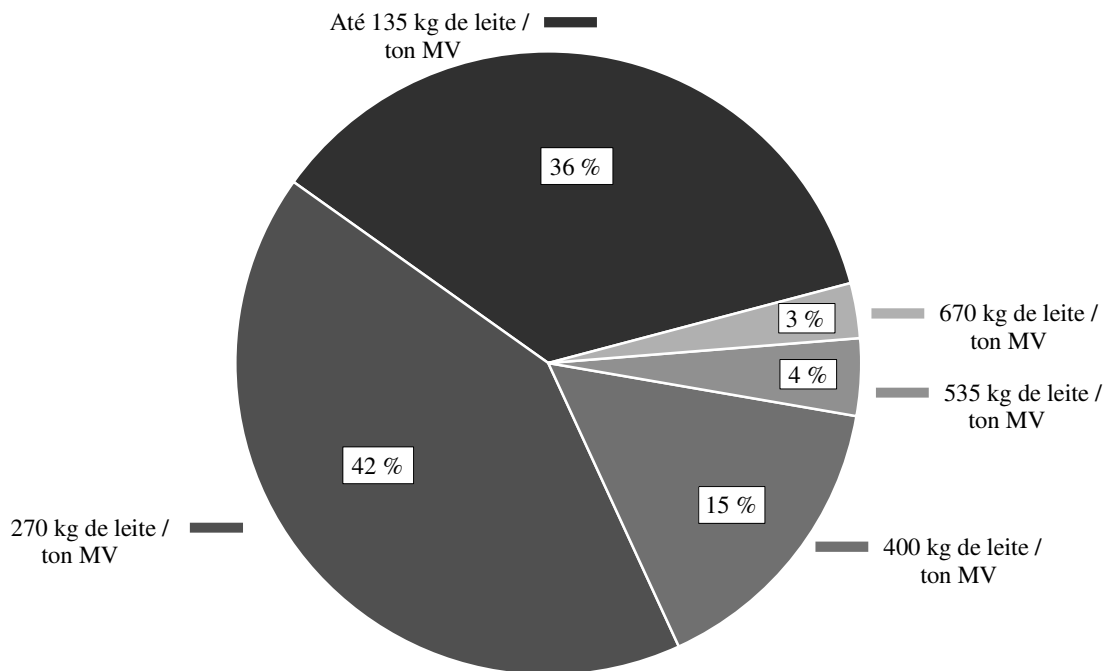


Figura 7. Distribuição de frequências dos respondentes à pergunta: Em sua opinião, qual seria um preço aceitável por tonelada de uma dieta total balanceada para vacas de 25 kg de leite/dia (valor sem o frete)?

Lopes e Santos (2013), ao analisar a rentabilidade em fazendas leiteiras com alto volume de produção diária em regime semi-confinado, na região sul e sudoeste do estado de Minas Gerais, encontraram um custo operacional efetivo médio somente com a alimentação de 61 % em relação aos custos totais, contudo, os autores concluíram que embora as fazendas

têm um elevado custo operacional com a alimentação, as mesmas apresentaram uma rentabilidade positiva. Baseando-se nas informações de Lopes e Santos (2013), os produtores que pagariam até 270 kg de leite por tonelada da silagem de RMT, podem apresentar uma rentabilidade positiva. Contudo esses são apenas valores de referência, os quais podem alterar e muito dependendo de cada fazenda, região, sistema de produção e do custo com o transporte.

Ao observarmos a frequência entre os tipos de sistemas de produção, tamanho do plantel e produção de leite diária em cada região do Brasil (Tabela 1) que responderam o questionário *online*, nota-se que o sistema de produção de leite a base de pasto foi o que prevaleceu em todas as regiões. O tamanho do plantel predominante foi o de até 50 vacas em lactação em todas as regiões, e a frequência de produtores com a maior produção de leite (kg/vaca/dia) foi encontrada na região Sul, onde 39,8% dos produtores tem uma produção média do plantel entre 21 a 25 kg de leite/vaca/dia. Outro ponto importante da região Sul, foi a única região onde teve fazendas com produção média acima de 30 kg de leite/vaca/dia.

Tabela 1. Frequência observada (%) entre os tipos de sistemas de produção, tamanho do plantel e produção de leite diária em cada região do Brasil, baseada nas respostas dos produtores que participaram do questionário *online*

		Regiões				
		Sul	Sudeste	Centro Oeste	Norte	Nordeste
Sistemas de produção:	a pasto	60.2	50.0	63.6	100	62.5
	confinado	32.7	33.3	36.4	0.0	25.0
	semi-confinado	5.1	13.0	0.0	0.0	12.5
	compost barn	2.0	3.7	0.0	0.0	0.0
Nº de vacas em lactação:	até 50	66.3	64.8	45.4	100	75.0
	51 a 100	24.5	22.2	27.3	0.0	0.0
	101 a 200	6.1	9.3	9.1	0.0	25.0
	acima de 200	3.1	3.7	18.2	0.0	0.0
Produção de leite (kg/vaca/dia)	até 15	8.2	29.6	36.4	75.0	62.5
	16 a 20	31.6	31.5	45.5	25.0	37.5
	21 a 25	39.8	20.4	0.0	0.0	0.0
	26 a 30	14.3	18.5	18.1	0.0	0.0
	acima de 30	6.1	0.00	0.0	0.0	0.0

A Tabela 2 refere-se à segunda etapa da nossa pesquisa sobre o questionário exploratório-descritivo presencial (n=12). Como podemos observar, as fazendas utilizavam RMT formulada para diferentes níveis de produção, variando de 45; 35; 30 ou 25 kg de leite/vaca/dia.

Tabela 2. Dados sobre a alimentação e a produção de leite das 12 fazendas que participaram do questionário presencial

Fazendas	Silagem de RMT formulada (kg/leite/dia)	Produtividade média dos rebanhos (kg/leite/dia)	Consumo diário de silagem de RMT na matéria natural (kg)	kg de RMT consumidos por kg de leite produzido
1	45	35	38,2	1,09
2	35	32	52	1,63**
3	35	30	40	1,33
4	30	27	50,5	1,87**
5	30	25	40	1,60**
6	25	23,5	37	1,57
7	25	23	35	1,52
8	25	20	33	1,65
9	25	19,5	20	1,03
10	25	18	33	1,83**
11	25	15	22	1,47
12	25	13	15	1,15

**Fazendas que utilizavam somente a silagem de RMT na alimentação do rebanho, as demais fazendas além da silagem de RMT fornecem outras fontes de volumoso

Na média entre as fazendas entrevistadas, os animais consumiram 34,6 kg de silagem de RMT por dia na matéria natural e produziram 23,4 kg de leite/dia, atingindo uma eficiência de produção média de aproximadamente 1,48 kg de silagem de RMT consumida por litro de leite produzido, no entanto, apenas 4 das 12 fazendas entrevistadas utilizam somente a silagem de RMT como fonte de alimento em seus rebanhos, as demais além da silagem fornecem outras fontes de volumoso e sal mineral.

Xue et al., (2011) ao trabalharem com vacas holandesas (H) e vacas mestiças meio sangue Holandesa-Jersey (H/J) todas primíparas, durante 168 dias, encontraram uma eficiência de produção de 2,3 e 2,2 kg de RMT na matéria natural por litro de leite produzido, respectivamente as raças (H; H/J) quando a ração foi formulada com 30% de volumoso,

diminuindo para 1,4 e 1,4 kg de RMT na matéria natural por litro de leite produzido quando a ração foi formulada com 70% de volumoso, corroborando com os valores encontrados em nosso estudo.

As propriedades visitadas eram bastante variáveis em relação ao número de animais, com rebanhos entre 19 e 160 vacas em lactação. Contudo, 6 fazendas tinham até 50 animais em lactação, 4 fazendas tinham entre 51 a 100 animais em lactação e 2 fazendas tinham entre 101 a 200 animais em lactação. Em relação ao sistema de produção, 7 das 12 propriedades mantinham as vacas em pastagem, além de receber a TMR, sendo que 2 fazendas tinham o sistema principalmente à pasto; 5 fazendas tinham o sistema semi-confinado; 2 fazendas tinham o sistema compost barn; e 3 fazendas tinham o sistema principalmente confinado.

Durante a visita às fazendas leiteiras, umas das perguntas realizada aos produtores foi relacionada aos principais pontos negativos que eles têm ao adquirirem a silagem de RMT. Dentre as respostas obtidas, listamos os 4 principais pontos negativos elencados pelos produtores (Figura 8). O custo elevado da silagem de RMT foi um dos pontos negativo elencado pelos produtores, sendo que 50% acham o custo extremamente elevado, 34% acham o custo muito elevado, 8% acham o custo um pouco elevado, e 8% não acham o custo da silagem de RMT elevado. Em relação ao custo do frete, 42% acham o custo extremamente elevado, 33% acham o custo muito elevado, 17% acham o custo um pouco elevado, e 8% não acham que o custo seja elevado.

Outro ponto negativo elencado pelos produtores foi a questão de existir somente um fornecedor da silagem de RMT até o momento em todo o Brasil. 17% acham extremamente negativo, 25% acham isso muito negativo, 42% acham isso um pouco negativo, e 16% não acham isso um ponto negativo. E por último e não menos importante, 8% acham extremamente negativo abdicar de intervir no custo da dieta, 25% acham muito negativo, 42% acham um pouco negativo, e 25% dos produtores não acham que isso seja um ponto negativo.

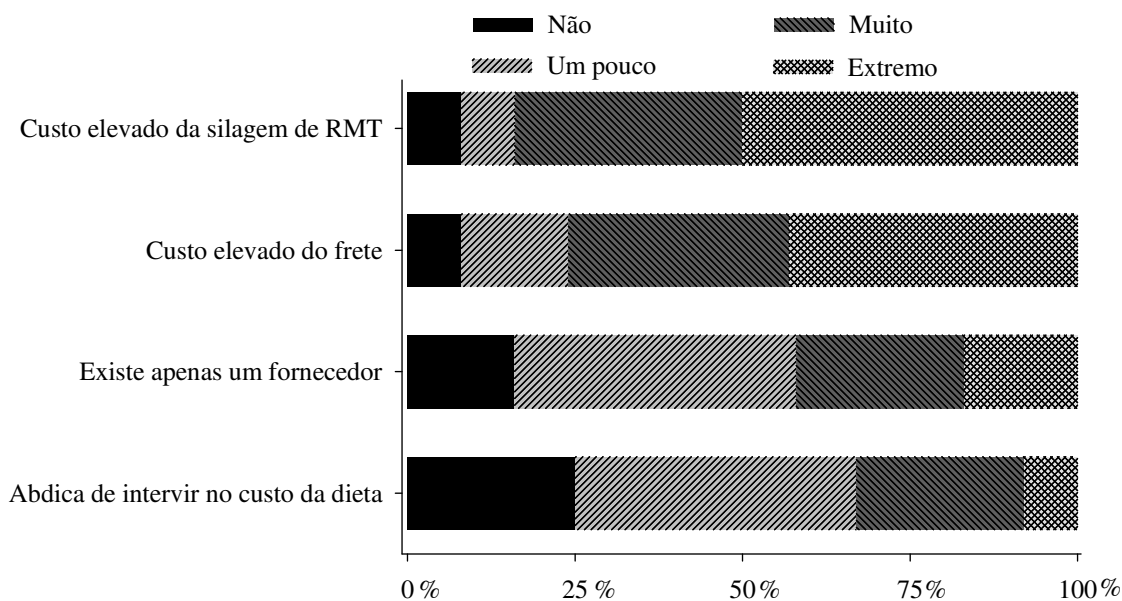


Figura 8. Quais os pontos negativos que os produtores têm quando utilizam a silagem de RMT

Na Figura 9 estão apresentados os principais pontos positivos listados pelos produtores entrevistados e que utilizam a silagem de RMT em suas fazendas. 16% dos produtores acham que ao adquirir a silagem de RMT diminuiu muito a mão de obra e aumenta muito a comodidade com a atividade, e 84% comentam que diminuiu extremamente a mão de obra, e aumenta extremamente a comodidade com a atividade leiteira. Sobre a agilidade no trabalho, 8% acham que melhorou um pouco, 42% acham que melhor muito, e 50% comentam que a agilidade no trabalho após o início da utilização da silagem de RMT melhorou extremamente.

Outro ponto positivo citado pelos produtores foi sobre a utilização das áreas de pastagens para produção de grãos. 25% dos produtores acham esse ponto um pouco positivo, 33% acham muito positivo, e 42% acham extremamente positivo. Sobre a qualidade da dieta constante o ano todo, 8% dos produtores não acham isso um ponto positivo, 33% acham pouco positivo, 42% acham muito positivo e 17% acham extremamente positivo manter a qualidade da dieta constante o ano todo.

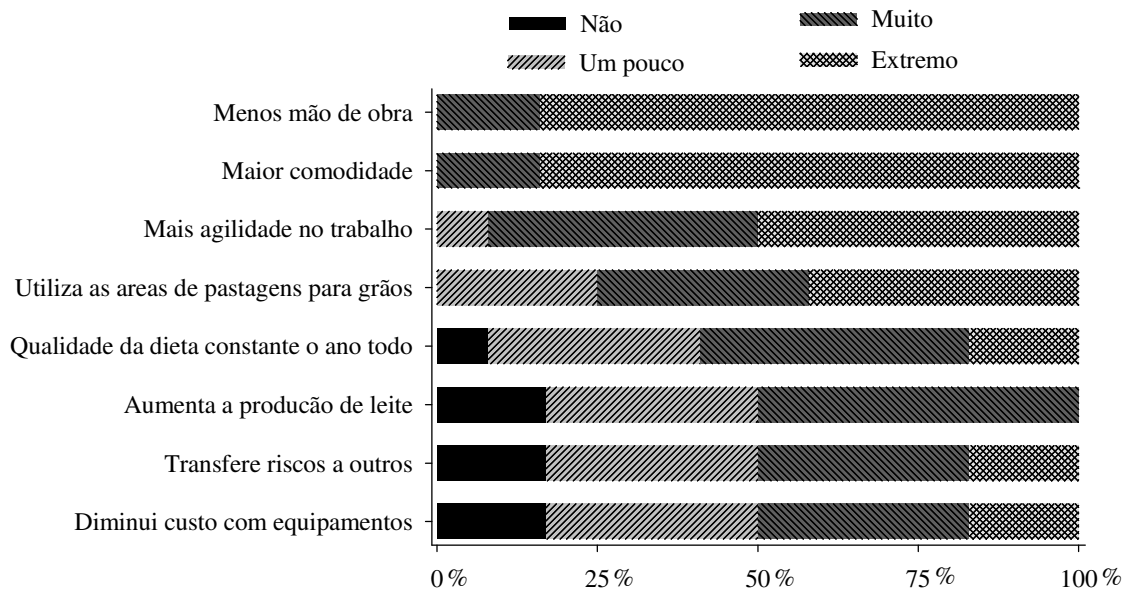


Figura 9. Quais os principais pontos positivos elencados pelos produtores que utilizam a silagem de RMT em suas fazendas

Sobre o aumento na produção de leite nas fazendas entrevistadas, 17% dos produtores não tiveram aumento na produção, 33% relataram que aumentou um pouco, e 50% dos produtores comentaram que a produção de leite do rebanho aumentou muito. Transferir riscos e diminuição de custos com equipamentos também foram listados pelos produtores como pontos positivos, porém 17% dos entrevistados não acham esses dois pontos positivos, 33% acha um pouco positivo, 33% acham muito positivo e 17% acham extremamente positivo ambos os pontos.

A forma mais utilizada para a comercialização da silagem de RMT é através de silos (fardos) cilíndricos de 1000 kg. Esse modelo de silo auxilia as indústrias na ensilagem, compactação, vedação e na comercialização, porém, por serem silos pesados, o manuseio incorreto pode promover furos no filme plástico de vedação durante o transporte e a descarregamento nas fazendas que adquirem essa tecnologia. Na Figura 10 estão apresentadas algumas das respostas dos produtores quando questionados sobre o assunto.

Quando os produtores foram questionados se eles conferem a integridade do filme plástico de vedação, 83% responderam que sim, e 17% responderam que confere a integridade de alguns dos silos. Em relação aos produtores que já tiveram algum tipo de

problema com furos no filme plástico de vedação, 50% deles comentaram que sim, já tiveram problemas, 25% responderam tiveram alguns problemas, mas nada grave, e 25% responderam não tiveram nenhum tipo de problema com furos no filme plástico de vedação.

Para os produtores que tiveram algum tipo de problema foi perguntado qual destino é dado a esses fardos. 66% responderam que utilizam o mais breve possível para evitar possíveis perdas, 23% comentaram que alguns eles utilizam primeiro, mas nem todos, e 11% responderam que não utilizam primeiro.

Vinte e cinco por cento dos produtores responderam que devolvem os fardos da silagem de RMT para a empresa, quando a integridade do filme plástico de vedação da sofre algum tipo de dano, 33% comentaram que devolve alguns dos fardos, somente os mais prejudicados, e 42% comentaram que não devolvem os fardos.

Sobre as sobras no cocho, 17% responderam que sim, têm sobra no cocho, mas essas sobras não são jogadas fora e sim fornecida para outra categoria de animais, e 83% dos produtores responderam que não têm sobras no cocho.

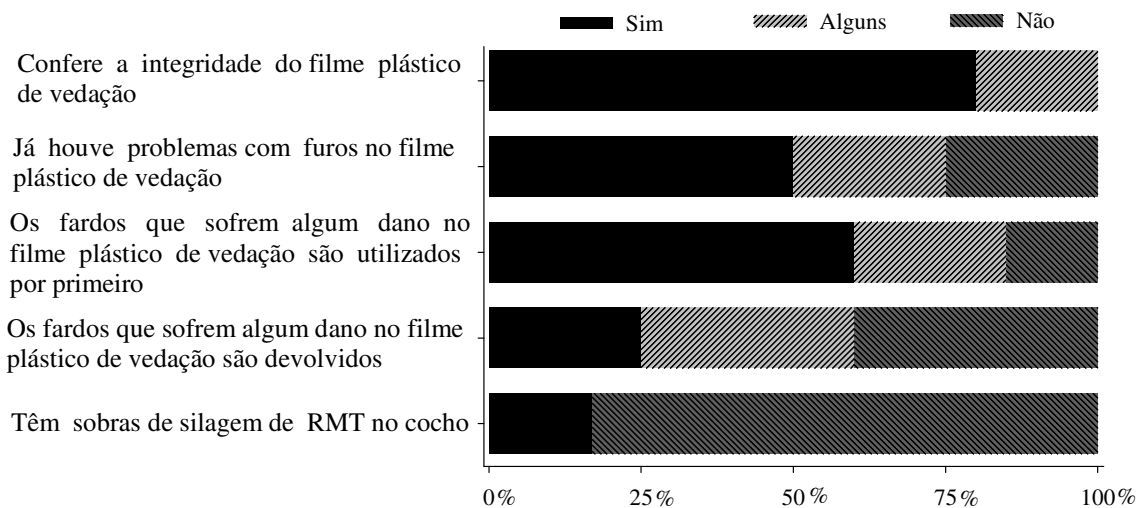


Figura 10. Preocupação dos produtores sobre a integridade do filme plástico de vedação das silagens de RMT

Por fim, os produtores foram questionados sobre quanto tempo pretende continuar usando a RMT ensilada, e 11 dos 12 produtores declararam interesse em continuar adquirindo essa tecnologia para alimentação dos animais.

Avaliados em conjunto, os questionários deixam evidente um grande potencial de expansão para a atividade de comercialização de rações prontas. Empresas brasileiras e multinacionais estão de olho nesse mercado e novos fornecedores estarão entrando na atividade nos próximos anos. Certamente, a silagem de RMT será a opção de conservação escolhida pela maioria destes.

5.4 CONCLUSÕES

Através das respostas obtidas pelos questionários *online* pode-se concluir que existe um grande número de produtores de leite no Brasil que nunca ouviram falar sobre a comercialização da silagem de RMT, ou se ouviram não sabem ao certo como funciona, mas têm um interesse em conhecer mais sobre esta nova tecnologia e quem sabe utilizar como principal fonte de alimento em seus rebanhos, independente de região, sistema de produção e volume de produção.

Nas fazendas que estão utilizando a silagem de RMT como principal fonte de alimento para os seus rebanhos, como toda e qualquer tecnologia que está sendo implementada, vários são as vantagens e desvantagens. Dentre as principais vantagens, a comodidade e a diminuição na necessidade de mão de obra foram as mais comentadas pelos produtores, contudo, o elevado custo da RMT e do transporte foram as principais desvantagens.

De modo geral, a comercialização da silagem de RMT pode se tornar uma opção de sistema de alimentação aos ruminantes principalmente em fazendas que por algum motivo sofrem com a disponibilidade de alimento, desde que o custo dessa tecnologia seja viável economicamente.

5.5 REFERÊNCIAS

Análises estatísticas. Disponível em: <https://www.sas.com/pt_br/software/university-edition.html> Acesso em 06 de junho de 2018/

Aguiar, A. P. A. Sistema de pastejo rotacionado. In: **Curso de manejo de pastagens**. Itapetinga, 2003. Apostila 1... Itapetinga: SEBRAE, 2003. p. 66-99.

Altafin, I., Pinheiro, M. E. F., De Vicenzo Valeno, G., Gregolin, A. C. Produção familiar de leite no Brasil: Um estudo aos assentamentos de reforma agrária no Município de Unaí (MG). **Unisulma**, v.1, p. 31-49, 2011.

- Bandeira, A. Organização da Cadeia Produtiva do Leite - **Agricultura Familiar** - 2014. 26 P. **Especialização** (MBA em Gestão de Negócios). Curitiba, 2014.
- Benedetti, E; **Boas Práticas para produção de leite a pasto**. Salvador: 2ª edição. SEAGRI, 2008. 176p.
- Cadeia produtiva do leite. Disponível em:< <http://www.cnabrazil.org.br/>> Acesso em 25 de maio de 2018. Boletim VBP. 33ª edição 33 – fevereiro de 2018.
- Díaz-Royón, F. Feeding for low weight-backs in high-producing herds. **Progressive Dairy Man**. 05 de Agosto, 2016.
- Instituto brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Censo Agropecuário 2006, resultados preliminares. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. v. 1, 146 p. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuário.pdf>.> Acesso em 30 maio de 2018.
- Jobim, C.C.; Nussio, L. G.; Reis, A. R.; Schmidt, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.101-119, 2007.
- Liu, Q., Li, X., Seare, T. D., Zhang, J., Shao, T. 2016. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and *in vitro* digestibility of total mixed rations silage including rape straw. **Journal of Integrative Agriculture**. 15:2087–2096.
- Lopes Junior, J. F.; Crispim de Oliveira Ramos, C. E.; Tadeu dos Santos, G.; Grande, P. A.; Damasceno, J. C.; Massuda, E. M. Análise das práticas de produtores em sistemas de produção leiteiros e seus resultados na produção e qualidade do leite. **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 33, pp. 1199-1208, 2012.
- Lopes, A. L., Santos, G. Análise de rentabilidade de fazendas leiteiras em regime de semiconfinamento com alta produção diária. **Informações Econômicas**, SP, v. 43, n. 3, 2013.
- Malhotra, N. K **Pesquisa de marketing**: uma orientação aplicada. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2003.
- Miyaji, M.; Matsuyama, H.; Hosoda, k.; Nonaka, k. Milk production, nutrient digestibility and nitrogen balance in lactating cows fed total mixed ration silages containing steam-flaked brown rice as substitute for steam-flaked corn, and wet food by-products. **Animal Science Journal**. v. 84, p.483-488, 2013.
- Miyaji, M. and Ninaka, K. Effects of altering total mixed ration conservation method when feeding dry-rolled versus steam-flaked hulled rice on lactation and digestion in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.101, p.1-10, 2018.
- Nishino, N., Hattori, H., Wada, H., Touno, E. 2007. Biogenic amine production in grass, maize and total mixed ration silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Applied Microbiology**. 103:325–332.

- Oliveira, L. F. T., Silva, S. P. Mudanças Institucionais e Produção Familiar na Cadeia Produtiva do Leite. **RESR**, Piracicaba - SP, v. 50, nº 4, p. 705-720, 2013.
- Oliveira, L. F. T., Silva, S. P. Mudanças institucionais e produção familiar na cadeia produtiva do leite no Oeste Catarinense. **Revista de Economia e Sociologia Rural**. v. 50, nº 4, 705 – 720.
- Parré, J. L., Bánkuti, S. M. S., Zanmaria, N. A. Perfil socioeconômico de produtores de leite da região sudoeste do paraná: um estudo a partir de diferentes níveis de produtividade. **Revista de Economia e Agronegócio**, v.9, p 2. INSS. 1679-1614. 2011.
- Produtividade média da produ o de leite no Brasil. Disponível em:< <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/todos-os-produtos-estatisticas.html>.> Acesso em 30 de maio de 2018. Produ o da pecuária municipal (PPM).
- Vilela, D., Leite, J. L. B., Resende, J. C., Políticas para o leite no brasil: passado, presente e futuro. **Anais do Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil / editores Geraldo Tadeu dos Santos et al. – Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, 2002. 212P.**
- Xue, B., Yan, T., Ferris, C. F., Mayne, C. S., Milk production and energy efficiency of Holstein and Jersey-Holstein crossbred dairy cows offered diets containing grass silage. **Journal Dairy Science**, v.94, p. 1455–1464, 2011.
- Wang, F., Nishino, N., Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p.133-140, 2008.
- Zago, Cláudio Pratez. Utiliza o do sorgo na alimenta o de ruminantes. In: Manejo cultural do sorgo para forragem. Sete Lagoas: **EMBRAPA/CNPMS**,1997. p.9-26 (Circular Técnica/EMBRAPA-CNPMS, 17).

6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS DO TRABALHO

A ração em mistura total apresenta características desejáveis para ser armazenada na forma de silagem, devido as pequenas perdas durante o processo fermentativo, do aumento da população microbiana desejável e da diminuição dos microrganismos indesejáveis.

Para que o processo fermentativo das silagens de ração em mistura total ocorra adequadamente, é necessário que o material permaneça armazenamento na forma de silagem por mais de 15 dias.

Os aditivos microbianos *L. plantarum* e *L. buchneri* nas condições em que o presente trabalho foi desenvolvido não alteram os parâmetros fermentativos e não diminui as perdas nas silagens de ração em mistura total.

Erros de manejo durante o processo de confecção das silagens devem ser evitados, porém para as silagens de ração em mistura total, dois furos de 25 cm² no filme plástico de vedação não causam perdas expressivas.

A grande maioria dos produtores de leite do Brasil ainda não têm um conhecimento sobre a comercialização da silagem ração em mistura total, mas demonstram interesse sobre o assunto.

A silagem de ração em mistura total pode se tornar uma alternativa de alimento para a pecuária brasileira, principalmente em fazendas que sofrem algum tipo de limitação no preparado e na disponibilidade de alimento.

Nas fazendas que estão utilizando a silagem de ração em mistura, existem vários pontos positivos e negativos, porém a viabilidade econômica é um dos pontos fundamentais para que essa tecnologia tenha sucesso em nosso país.

7.0 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A silagem de ração em mistura total pode ser considerada um assunto relativamente novo no Brasil e precisa ser melhor pesquisada, para conseguirmos disponibilizar aos pecuaristas uma opção de alimento de qualidade constante e com custo competitivo. Além de criar melhores oportunidades para um mercado ainda incipiente.

Para trabalhos futuros com a silagem de ração em mistura total, caso venham ser pesquisados novos aditivos microbianos, atenção às dosagens, pois a população total de bactérias é maior do que em silagens de gramíneas convencionais.

Realizar novas pesquisas com coprodutos que tenham disponibilidade e qualidade constante para serem incrementados na ração dos ruminantes é de fundamental importância, pois: evita que esse coproduto se torne um poluente ambiental; pode diminuir o custo da ração em mistura total; e diminui a competição dos animais com os seres humanos pelos grãos de cereais.

Novos trabalhos avaliando a degradabilidade ruminal do amido em silagens de ração em mistura total precisam ser realizados.

8.0 REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZADEH, F.; PIRMOHAMMADI, R.; FATEHI, F. BERNOUSI, I. The effect of feeding ensiled mixed tomato and apple pomace on performance of Holstein dairy cows. Slovak. **Journal of Animal Science**, v.1, p.31-35, 2010.
- AGUIAR, A. P. A. Sistema de pastejo rotacionado. In: **Curso de manejo de pastagens**. Itapetinga, 2003. Apostila 1... Itapetinga: **SEBRAE**, 2003. p. 66-99.
- ALTAFIN, I., PINHEIRO, M. E. F., DE VICENZO VALENO, G., GREGOLIN, A. C. Produção familiar de leite no Brasil: Um estudo aos assentamentos de reforma agrária no Município de Unaí (MG). **Unisulma**, v.1, p. 31-49, 2011.
- AMARAL, R. C.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. et al. Estabilidade aeróbia de silagens do capim-marandu submetidas a diferentes intensidades de compactação na ensilagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.977-983, 2008.
- ANÁLISE ESTATÍSTICAS. Disponível em: <https://www.sas.com/pt_br/software/university-edition.html> Acesso em 06 de junho de 2018.
- ANDRADE, I. V. O.; PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P.; et al., Perdas, características fermentativas e valor nutritivo da silagem de capim elefante contendo subprodutos agrícolas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.2578-2588, 2010.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**. 19th ed. AOAC Int., Arlington, VA, 2012.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 15th ed. AOAC Internacional, Arlington, Virginia, 1990.
- AZEVÊDO, J. A. G.; VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. et al. Consumo, digestibilidade total, produção de proteína microbiana e balanço de nitrogênio em dietas com subprodutos de frutas para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1052-1060, 2011.
- BANDEIRA, A. Organização da Cadeia Produtiva do Leite - **Agricultura Familiar** - 2014. 26 P. **Especialização** (MBA em Gestão de Negócios). Curitiba, 2014.
- BENEDETTI, E; **Boas Práticas para produção de leite a pasto**. Salvador: 2ª edição. SEAGRI, 2008. 176p.
- BERNARDES, T. F.; DANIEL, J. L. P.; ADESOGAN, A. T.; MCALLISTER, T. A.; DROUIN, P.; NUSSIO, L. G.; HUHTANEN, P; TREMBLAY, G. F.; BÉLANGER, G. and CAI, Y. *Silage review*: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. **Journal Dairy Science**, 101:4001–4019, 2018.
- BOLSEN, K. K.; LIN, C.; BRENT, B. E. et al. Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silage. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 3066 – 3082, 1992.
- BOLSEN, K. K., ASHBELL, G., WEINBERG, Z. G. Silagem fermentation and silage additives – Review -. **Asian Journal Animal Science**, v. 9, p. 483 – 493, 1996.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.6, p.2620-2629, 2010.
- BOUZIDA, N.; BENDADA, A. and MALDAGUE, X. P. Visualization of body thermoregulation by infrared imaging. **Journal of Thermal Biology** 34:120-126, 2009.

- CADEIA PRODUTIVA DO LEITE. Disponível em: < <http://www.cnabrazil.org.br/> > Acesso em 25 de maio de 2018. Boletim VBP. 33ª edição 33 – fevereiro de 2018.
- CAO, Y.; TAKAHASHI, T.; HORIGUCHI, K. Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. **Animal Feed Science and Technology**. v.151, p.1-11, 2009.
- CAO, Y.; CAI, Y.; HIRAKUBO, T. et al. Fermentation characteristics and microorganism composition of total mixed ration silage with local food by-products in different seasons. **Animal Science Journal**. v. 82, p. 259–266, 2011.
- CHANEY, A. L. and MARBACH, E. P. Modified Reagents for Determination of Urea and Ammonia. **Clinical Chemistry** 8:130, 1962.
- CHEN, L.; GUO, G.; YU, C. et al. The effects of replacement of whole-plant corn with oat and common vetch on the fermentation quality, chemical composition and aerobic stability of total mixed ration silage in Tibet. **Animal Science Journal**, v. 86, p. 69–76, 2015.
- DANIEL, J. L. P. Contribuição da fração volátil no valor nutricional de silagens. 2011. F.162. **Tese** (Doutor em Ciência Animal e Pastagens). Piracicaba. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz.
- DANNER, H., HOLZER, M., MAYRHUBER, E., BRAUN, R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Appl Environ Microbiol**. v.69, p.562–567, 2003.
- DA SILVA, M. S.; TREMBLAY, G. A.; BÉLANGER, G.; et al. Forage energy to protein ratio of several legume–grass complex mixtures. **Animal Feed Science and Technology**, v. 188, p.17–27, 2014.
- DAVIDSON, P. M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTEVILLE, T. J. (eds) **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington: ASM Press, p. 520-556, 1997.
- DEMIATE, I.M., KONKEL, F.E., PEDROSO, R.A. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de doce de leite pastoso – composição química. **Ciência Tecnológica de Alimentos**. 21:108-114, 2001.
- DER BEDROSIAN, M. C., NESTOR, K. E., KUNG, Jr. L. The effects of hybrid, maturity and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. **Journal Dairy Science**. 95:5115 – 5126, 2012.
- DÍAZ-ROYÓN, F. Feeding for low weight-backs in high-producing herds. **Progressive Dairy Man**. 05 de Agosto, 2016.
- DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. W. H. O. and 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 of Applied Microbiology** 87:583-594, 1999.
- DROUIN, P.; LAFRENIERE, C. Clostridial spores in animal feeds and milk. In: CHAIYABUTR, N. (Ed.) **Milk production: an up-to-date overview of animal nutrition, management and health**. Rijeka: Intech, p.375-394, 2012.
- DUNIÈRE, L.; SINDOU, J.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; CHEVALLIERD, I.; THÉVENOT-SERGEANTE, D. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. **Animal Feed Science and Technology**, v. 182, p. 1– 15, 2013.

- ELY, L. O.; SUDWEEKS, E. M.; MOON, N, J. Inoculation with *Lactobacillus plantarum* of alfalfa, corn, sorghum, and wheat silages. **Journal Dairy Science**, 64:2378—2387, 1981.
- ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**. 44:1768-1771, 1961.
- FERRARETTO, L. F., and R. D. SHAVER. Meta-analysis: Impact of corn silage harvest practices on intake, digestion and milk production by dairy cows. **Journal Animal Science**. 28:141–149, 2012.
- FERRARETTO, L. F., and R. D. SHAVER. Impact of whole-plant corn silage hybrid type on intake, digestion, ruminal fermentation and lactation performance by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**. 98:2662–2675, 2015.
- 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**. 101:3937–3951., 2018.
- FREITAS, L. S.; SILVA, J. H. S.; SEGABINAZZI, L. R. ET AL. Substituição da silagem de milho por silagem de girassol na dieta de novilhos em confinamento: comportamento ingestivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.225-232, 2010.
- GERON, L. J. V.; ZEOULA, L. M.; ERKEL, J. A. et al. Coeficiente de digestibilidade e características ruminais de bovinos alimentados com rações contendo resíduo de cervejaria fermentado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1685-1695, 2008.
- HENDERSON N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v. 45, p. 35-56, 1993.
- HOFFMAN, O. C., ESSER, N. M., SHAVER, R, D. et al., Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**. 94:2465 – 2472, 2011.
- HOING, H. Reducing losses during storage and unloading of silage. In: EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION FORAGE CONSERVATION TOWARDS 2000 CONFERENCE, 1991, Braunschweig. **Proceedings...** Braunschweig: [s.n.], 1991. p.116-128.
- HOLDEN, L. A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal Dairy Science**, 82:1791-1794, 1999.
- HOLMES, B. J. Software applications for sizing silos to maximize silage quality. Pages 189–208 in Proc. Intl. **Symposium**. Forage Quality Conservation., Piracicaba, Brazil. University of São Paulo, Piracicaba, Brazil, 2009.
- HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; DANNER, H.; BRAUN, R. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 21, p. 282–287, 2003.
- HONIG, H. Reducing losses during storage an unloading of silage. In PAHLOW, G; HONIG, H (Eds). Forage conservation towards 2000. 1^{ed}. Braunschweig: European Grassland Federation 1:116-128, 1991.
- HU, X.; HAO, W.; WANG, H.; et al., Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace. **Asian Australians, Journal of Animal Science**. v. 28, p. 502 – 510, 2015.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Censo Agropecuário 2006, resultados preliminares. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. v. 1, 146 p.

Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuario.pdf>.> Acesso em 30 maio de 2018.

IMAI A. Silage making and utilization of high moisture by-products. 1. Significance of silage making for high moisture by-products. **Grassland Science**. v.47, p.307-310, 2001.

ISHIDA, K.; YANI, S.; KITAGAWA, M.; OISHI, K.; HIROOKA, H. and KUMAGAI, H. Effects of adding food by-products mainly including noodle waste to total mixed ration silage on fermentation quality, feed intake, digestibility, nitrogen utilization and ruminal fermentation in wethers. **Animal Science Journal** 83:735-742, 2012.

JOBIM, C. C.; GONÇALVES, G. D. Microbiologia de forragens conservadas. In: RIS, R. A.; Bernardes, T. F.; Siqueira, G. R.; Moreira, A. L. **Volúmosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens**. Jaboticabal: FUNESP, p. 51-70, 2003.

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

KLEINSCHMIT, D. H. and KUNG, Jr. L. A Meta-Analysis of the Effects of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn and Grass and Small-Grain Silages. **Journal of Dairy Science**. 89:4005–4013, 2006.

KONONOFF, P. J.; HEINRICH, A. J.; LEHMAN, H. A. The Effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**. 86:3343–3353, 2003.

KRAUT-COHEN, J.; TRIPATHI, V.; CHEN, Y.; GATICA, J.; VOLCHINSKI, V.; SELA, S.; WEINBERG, Z. and CYTRYN, E. Temporal and spatial assessment of microbial communities in commercial silages from bunker silos. **Applied Microbiology and Biotechnology** 100:6827-6835, 2016.

KUNG JR., L.; GRIEVE, D.B.; THOMAS, J.W.; HUBER, J.T. Added ammonia or microbial inoculate for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percent of dry matter. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.299-306, 1984.

KUNG, L. and MUCK, R. In Proceedings of the Conference on Silage: **Field to Feed Bunk**. North American Conference Hershey, PA. NRAES-99. Northeast Regional Agricultural Engineering Services, Ithaca, NY, 1997.

KUNG JR. L.; ROBINSON JR., RANJIT N. K., CHEN J. H., GOLT C. M., PESEK J. D. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1479-1486, 2000.

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

KUNG, Jr. L. International Symposium on Forage Quality and Conservation. **Proceeding**. Piracicaba, FEALQ, 2009.

KUNG, Jr. L., WINDLE, M. C., WALKER, N. The effect of an exogenous protease on the fermentation and nutritive value of high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**. 97:1 – 6, 2014.

- LAMMERS, B.P.; BUCKMASTER, D.R.; HEINRICHS, A.J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, 79:922-928, 1996.
- LEE, S.-J.; SHIN, N.-H.; CHU, G.-M. and LEE, S.-S. Effects of synbiotics containing anaerobic microbes and prebiotics on in vitro fermentation characteristics and in situ disappearance rate of fermented-TMR. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 24:1577-1586, 2011.
- LIN, C. K. K., BOLSEN, B. E., BRENT, R. A., HART, J. T., et al. Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. **Journal Dairy Science**. v. 75, p. 2484 – 2494, 1992.
- LIU Q H, ZHANG J G, SHI S L, SUN Q Z. The effects of wilting and storage temperatures on the fermentation quality and aerobic stability of style silage. **Animal of Science Journal**. 82:549–553, 2011.
- LIU, Q., LI, X., SEARE, T. D., ZHANG J., SHAO, T. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and *in vitro* digestibility of total mixed rations silage including rape straw. **Journal of Integrative Agriculture** 15: 2087 – 2097, 2016.
- LOPES, J.C.; SHAVER, P.C.; HOFFMAN, M.S. et al. Type of corn endosperm influences nutrient digestibility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 92:4541-4548, 2009.
- LOPES JUNIOR, J. F.; CRISPIM DE OLIVEIRA RAMOS, C. E.; TADEU DOS SANTOS, G.; GRANDE, P. A.; DAMASCENO, J. C.; MASSUDA, E. M. Análise das práticas de produtores em sistemas de produção leiteiros e seus resultados na produção e qualidade do leite. **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 33, pp. 1199-1208, 2012.
- LOPES, A. L., SANTOS, G. Análise de rentabilidade de fazendas leiteiras em regime de semi-confinamento com alta produção diária. **Informações Econômicas**, SP, v. 43, n. 3, 2013.
- MARTINS, A. S.; PRADO, I. N.; ZEOULA, L. M. et al. Digestibilidade aparente de dietas contendo milho ou casca de mandioca como fonte energética e farelo de algodão ou levedura como fonte proteica em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.269-277, 2000.
- MALHOTRA, N. K **Pesquisa de marketing**: uma orientação aplicada. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2003.
- MCDONALD, P. **Silage fermentation**. In: Occ. Symp. N° 11. Brit. Grassl. Soc. Brighton, UK, pp. 161-174, 1980.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. 2^{ed}. Marlow: halcombe Publications, 340p. 1991.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal AOAC Institution* 85:1217-1240, 2002.
- MIYAJI, M.; MATSUYAMA, H.; HOSODA, K.; NONAKA, K. Milk production, nutrient digestibility and nitrogen balance in lactating cows fed total mixed ration silages containing steam-flaked brown rice as substitute for steam-flaked corn, and wet food by-products. **Animal Science Journal**. v. 84, p.483-488, 2013.
- MIYAJI, M. and NONAKAT, K. Effects of altering total mixed ration conservation method when feeding dry-rolled versus steam-flaked hulled rice on lactation and digestion in dairy cows. **Journal Dairy Science**. v.101, p.1–10, 2018.

MONITORAMENTO AGROMETEOTOLÓGICO da região de Castro/PR - Maracaná. Disponível em: < <http://sma.fundacaoabc.org/> >. Acesso em 10 dez. de 2015.

MUCK, R. E. The role of silage additives in making high quality silage. In. National Silage Produce Conference, Ithaca, 1993. **Proceeding** Ithaca: Northeast Regional Agriculture Engineering Service, 1993, p.106 – 116.

MUCK, R.E.; KUNG JR., L. Effects of silage additives on ensiling. In: **Silage: field to feed bunk**. Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1997. p.187-199.

MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 183 – 19, 2010. Suplemento.

MUCK, R. E. Recent advances in the silage microbiology. **Agriculture and Food Science**. 22:3 – 15, 2013,

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

NISHINO, N., HARADA, H., SAKAGUCHI, E., Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. **Journal of Science**. v. 83, p.557-563, 2003a.

NISHINO, N., YOSHIDA, M., SHIOTA, H., SAKAGUCHI, E., Accumulation of 1,2-propanediol and enhancement of aerobic stability in whole crop maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. **Journal. Appl. Microbiologic**. V.94, p.800–807, 2003b.

NISHINO, N., WADA, H., YOSHIDA, M., SHIOTA, H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.2563–2570, 2004.

NISHINO, N. Ensiled total mixed ration. A non-conventional silage supporting animal production in Japan. p, 193–197 in Proc. 2nd China-Japan-Korea Sym. **Grassland Agriculture Animal**. Production, Chinese Soc. Grassland. Science., Lanzhou, China. 2006.

NISHINO, N., HATTORI, H. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage inoculated with and without homofermentative or heterofermentative lactic acid bacteria. **Journal Science Food and Agriculture**. v.87, p.2420–2426, 2007.

NISHINO, N., HATTORI, H., WADA, H., TOUNO, E. Biogenic amine production in grass, maize and total mixed ration silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Applied Microbiology**. v.103, p.325–332, 2007

NISHINO, N. **Aerobic stability and instability of silages caused by bacteria**. In Proceedings of the II International symposium on forage quality and conservation. Piracicaba, 2011.

NIWA, Y. Silage making and utilization of high-moisture by-products. Making silage from tofu cake and utilization. **Grassland Science**. v.47, p.323–326, 2001.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition**, 2001. ed. National Academies Press, Washington, DC, 2001.

OELBERG, T. P. 81-86. In: **Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop**. Grantville, PA, 2011.

- OLIVEIRA, L. B., PIRES, A. J. V., CARVALHO, G. G. P., et al. Losses and nutritional value of corn, Sudan sorghum, forage sorghum and sunflower silages. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 39 (1):61-67, 2010.
- OLIVEIRA, A. S., Z. G. WEINBERG, I. M. OGUNADE, A. A. P. CERVANTES, K. G. ARRIOLA, Y. JIANG, D. KIM, X. LI, M. C. M. GONCALVES, D. VYAS, and A. T. ADESOGAN. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 100:4587–4603, 2017.
- OLIVEIRA, L. F. T., SILVA, S. P. Mudanças Institucionais e Produção Familiar na Cadeia Produtiva do Leite. **RESR**, Piracicaba - SP, v. 50, nº 4, p. 705-720, 2013.
- OLIVEIRA, L. F. T., SILVA, S. P. Mudanças institucionais e produção familiar na cadeia produtiva do leite no Oeste Catarinense. **Revista de Economia e Sociologia Rural**. v. 50, nº 4, 705 – 720, 2012.
- OUDE ELFERINK, S.J.W.H., KROONEMAN, J., GOTTSCHAL, J.C., SPOELSTRA, S.F., FABER, F. AND DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Appl Environ Microbiol**. v.67, p.125–132, 2001.
- PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p.31-93, 2003.
- PARRÉ, J. L., BÁNKUTI, S. M. S., ZANMARIA, N. A. Perfil socioeconômico de produtores de leite da região sudoeste do paraná: um estudo a partir de diferentes níveis de produtividade. **Revista de Economia e Agronegócio**, v.9, p 2. INSS. 1679-1614. 2011.
- PHAKACHOED, N., SUKSOMBAT, W., COLOMBATTO, D., BEAUCHEMIN, K. A. Use of fibrolytic enzymes additives to enhance in vitro ruminal fermentation of corn silage. **Livestock Science**. 157:100–112, 2013.
- PRYCE, J. D. A Modification of the Barker-Summerson Method for the Determination of Lactic Acid. **Analyst**. 94:1151 – 1552, 1969.
- PRODUTIVIDADE MÉDIA DA PRODU O DE LEITE NO BRASIL. Disponível em:< <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/todos-os-produtos-estatisticas.html>.> Acesso em 30 de maio de 2018. Produ o da pecuária municipal (PPM).
- REGO, F. C. A.; LUDOVICO, A.; SILVA, L. C.; et al., Perfil fermentativo, composi o bromatológica e perdas em silagem de bagaço de laranja com diferentes inoculantes microbianos. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 33, p. 3411-3420, 2012.
- RESTELATTO, R.; PAVINATO, P. S.; SARTOR, L. R.; PAIXÃO, S. J. Production and nutritional value of sorghum and black oat forages under nitrogen fertilization. **Grass and Forage Science**, v. 69, p.693–704, 2013
- ROOKE, J. A.; BORMAN, A. J.; ARMSTRONG, D. G. The effect of inoculation with *Lactobacillus plantarum* on fermentation in laboratory silos of herbage low in water-soluble carbohydrate. **Crass and Forage Science**, 45:143-152, 1990.
- ROSSOW, H. A. and ALY, S. S. Variation in nutrients formulated and nutrients supplied on 5 California dairies. **Journal of Dairy Science**, 96:7371-7381, 2013.
- SAS. **Statistical Analysis System** - SAS. User’s guide: statistics Version 8.1, Cary: SAS Institute, (CD-ROM), 2001.

- SCHMIDT, P.; ROSSI JUNIOR, P.; JUNGES, D. et al., Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.543-549, 2011.
- SCHMIDT, P.; SOUZA, C.M.; BACH, B.C. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar? In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.; BANKUTI, F.I (eds.), SIMPÓSIO: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 5^{ed.}, Maringá, 2014. Anais... **Maringá: UEM**, 2014. p.243-264.
- SCHNEIDER, R.M., HARRISON, J.H., LONEY, K.A., The effects of bacterial inoculants, beet pulp, and propionic acid on ensiled wet brewer's grains. **Journal of Dairy Science**. v.78, p.1096–1105, 1995.
- SEPPÄLÄ, A.; HEIKKILÄ, T.; MÄKI, M.; MIETTINEN, H.; RINNE, M. Controlling aerobic stability of grass silage-based total mixed rations. **Animal Feed Science and Technology** v. 179, p. 54-60, 2012.
- SILVA, L. M.; OLIVEIRA, C. H. A.; RODRIGUES, F.V. et al. Desempenho e características da carcaça de cordeiros alimentados com bagaço de caju. **Arquivos de Zootecnia**. v.60, p. 777-786, 2011.
- SIQUEIRA G. R., BERNARDES T. F. and REIS R. A. Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção (Aerobic instability of silages: effects and possible prevention). In: REIS R. A., SIQUEIRA G. R. and BERTIPAGLIA L. M. A. (Eds.). **Volúmosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal, SP, Brazil: pp.25-60. Jaboticabal, Brazil: FUNEP, 2005.
- SOUZA, A. L.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Casca de café em dietas de vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.2496-2504, 2005.
- SOUZA, C. M. Impacto ambiental da produção de silagens: revisão da literatura e avaliação experimental em silos laboratoriais. 2015. F.132. **Dissertação** (Mestre em Ciências Veterinárias). Curitiba. Universidade Federal do Paraná, 2015.
- SOVA, A. D.; LEBLANC, S. J.; MCBRIDE, B. W. and DEVRIES, T. J. Accuracy and precision of total mixed rations fed on commercial dairy farms. **Journal of Dairy Science** 97:562-571, 2014.
- SPOELSTRA, S. F., HINDLE, V. A. Influence of wilting on chemical and microbial parameters of grass relevant to ensiling. **Journal Agriculture Science**, v. 37, p. 355 – 364, 1989.
- TABACCO, E., RIGHI, F., QUARENTELLI, A., BORREANI, G. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inoculate. **Journal of Dairy Science**. 94:1409–1419, 2011.
- TILLEY, J. M. A. and TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Grass and Forage Science** 18:104-111, 1963.
- UPADHYAYA, H. D; SHARMA, S.; RAMULU, B.; et al. Variation for qualitative and quantitative traits and identification of trait-specific sources in new sorghum germplasm. **Crop & Pasture Science**. v.61, p.609-618, 2010.

- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583–3597, 1991.
- VILELA, D., LEITE, J. L. B., RESENDE, J. C., Políticas para o leite no brasil: passado, presente e futuro. **Anais do Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil / editores Geraldo Tadeu dos Santos et al. – Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, 2002. 212P.**
- WANG, F., NISHINO, N., Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage: effect of ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. **Journal of Science Food Agriculture**. v.88, p.133–140, 2008.
- WANG F, NISHINO N. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewers grains preserved as a silage. **Animal Feed Science and Technology**, 149:265–274, 2009.
- WANG, R. R.; WANG, H. L.; LIU, X. AND XU, C. C. Effects of different additives on fermentation characteristics and protein degradation of green tea grounds silage. **Asian Australians Journal of Animal Science**, v. 24, p. 616-622, 2011.
- WANG, C., NISHINO, N., Effects of storage temperature and ensiling period on fermentation products, aerobic stability and microbial communities of total mixed ration silage. **Journal of Applied Microbiology** 114:1687-1695, 2013.
- WEIß, K.; KALZENDORF, C.; ZITTLAU, J.; AUERBACH, H. Novel results on the occurrence of volatile compounds in maize silages. In: **International Silage Conference Proceedings**,15., 2009. Madison. Proceedings... Madison, 2009.
- WEINBERG, Z. G, MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews** 19:53-68, 1996.
- WEINBERG, Z.G.; CHEN, Y.; MIRON, D. et al., Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film – A commercial scale experiment. **Animal Feed Science and Technology** v.164, p. 125-129, 2011.
- WHITER, A. G.; KUNG JR, L. The Effect of a Dry or Liquid Application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the Fermentation of Alfalfa Silage. **Journal Dairy Science**, 84:2195–2202, 2001.
- WILES, P.G.; GRAY, I. K.; KISSLING, R.C. Routine analysis of protein by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. **Journal of AOAC International**. 81:620-632, 1998.
- WINDLE, M. C., KUNG Jr, L. Factors affecting the numbers of expected viable lactic acid bacteria in inoculant applicator tanks. **Journal of Dairy Science**. 99:1 – 5, 2016.
- XING L, CHEN L J, HAN L J. The effect of an inoculant and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. **Bioresource Technology**. 100:488–491, 2009.
- XU CC, CAI Y, MORIYA N, OGAWA M. Nutritive value for ruminants of green tea grounds as a replacement of brewers’ grains in totally mixed ration silage. **Animal Feed Science and Technology** v.138, p.228-238, 2007.
- XU, C., Y. CAI, J. ZHANG, H. MATSUYAMA, W. Feeding value of total mixed ration silage with spent mushroom substrate. **Animal Science Journal**. v.81, p.194-198, 2010.

- XUE, B., YAN, T., FERRIS, C. F., MAYNE, C. S., Milk production and energy efficiency of Holstein and Jersey-Holstein crossbred dairy cows offered diets containing grass silage. **Journal Dairy Science**, v.94, p. 1455–1464, 2011.
- YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A. Increasing the physically effective fiber content of dairy cow diets may lower efficiency of feed use. **Journal of Dairy Science**, 89:2694-2704, 2006.
- YUAN, X.; GUO, G.; WEN, A. et al. The effect of different additives on the fermentation quality, *in vitro* digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. **Animal Feed Science and Technology**. v. 207, p.41–50, 2015.
- ZAGO, C. P. Utilização do sorgo na alimentação de ruminantes. In: Manejo cultural do sorgo para forragem. Sete Lagoas: **EMBRAPA /CNPMS**,1997. p.9-26 (Circular Técnica/EMBRAPA-CNPMS, 17).
- ZEBELI, Q.; TAJAJ, M.; STEINGASS, H. METZLER, B, DROCHNER, W. Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. **Journal of Dairy Science** 89:651-668, 2006.
- ZEBELI, Q.; DIJKSTRA, J.; TAJAJ, M.; STEINGASS, H.; AMETAJ, BN.; DROCHNER, W. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. **Journal of Dairy Science** 91:2046-2066, 2008.
- ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G.; Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, p.170-189, 2009.

ANEXO A - Termo de consentimento livre e esclarecido

Nós, Rasiel Restelatto e Patrick Schmidt, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você para participar do estudo intitulado “Silagem de ração em mistura total, uma alternativa para a bovinocultura leiteira” para fins de obtenção de informações técnicas referentes a esta tecnologia. O tempo máximo para responder o questionário e de aproximadamente 40 minutos.

a) No caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Para tanto, será necessário que responda um questionário/entrevista, que será realizada juntamente com os pesquisadores do projeto, tendo como objetivo identificar aspectos positivos e negativos da adoção dessa tecnologia em produtores que utilizam a silagem de ração em mistura total na região dos Campos Gerais no estado do Paraná.

b) O único risco/desconforto possível associado à sua participação é o constrangimento em responder aos questionamentos da pesquisa. Portanto, esclarecemos que as perguntas não são de caráter obrigatório e que o entrevistado não precisará responder a qualquer pergunta do roteiro de entrevista que julgar de caráter pessoal e/ou cause desconforto ao respondê-la. Também lembramos que a sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado.

c) A sua privacidade será respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, identificá-lo, será mantido em sigilo, e o material será armazenado por dois anos após o término do trabalho e seu descarte será em local apropriado.

d) As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro ou outro tipo de gratificação.

e) A sua participação contribuirá indiretamente em uma auto avaliação sobre o manejo alimentar do rebanho.

f) O pesquisador Rasiel Restelatto, pode ser encontrado no endereço: Rua dos funcionários, No 1540, CEP: 80035-050 ou pelo email: restelattor@yahoo.com.br ou através do telefone (46) 9973-2336 para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante e depois de encerrado o estudo.

Portanto:

Eu, _____,
portador do RG _____, CPF _____,
telefone () _____, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui
mencionado e compreendidos a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto
meu livre consentimento em participar. Declaro ainda que recebi uma cópia desse
Termo de Consentimento.
Curitiba, ____ de _____ de 2016.

Assinatura do(a) entrevistado(a)]

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde/UFPR.
Parecer CEP/SD-PB.nº 1671/2016
na data de 10/08/2016.

ANEXO B - Modelo do questionário *online*

O presente questionário faz parte de uma tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), e tem por objetivo verificar o interesse e o conhecimento dos produtores leiteiros sobre a silagem de ração em mistura total. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da UFPR, e os dados serão mantidos em sigilo absoluto.

- 1) Cidade:
- 2) Estado:
- 3) Qual o principal sistema de produção que sua fazenda utiliza?
 Principalmente a pasto Principalmente confinado
 Outro: _____
- 4) Qual o número aproximado de vacas em lactação?
 Até 50 51 a 100 101 a 200
 201 a 500 Acima de 500
- 5) Qual o nível médio de produção do seu rebanho (kg de leite por vaca por dia)?
 até 15 kg 16 a 20 kg 21 a 25 kg
 26 a 30 kg acima de 31 kg
- 6) Você já ouviu falar da comercialização de dieta total (silagem mais concentrado), pronta para servir as vacas?
 Sim Não Ouvi alguma coisa/não estou certo
- 7) Você acha que essa tecnologia poderia vir a ser utilizada em sua fazenda?
 Sim Não Talvez
- 8) Em caso afirmativo, quantos meses do ano você acredita que poderia usá-la?
 Até 3 meses 3 a 6 meses Acima de 6 meses
- 9) Em sua opinião, qual seria um preço aceitável por tonelada de uma dieta total balanceada para vacas de 25 litros/dia (valor sem o frete)?
 R\$ 200,00 R\$ 400,00 R\$ 600,00
 R\$ 800,00 R\$ 1.000,00 Acima de R\$ 1.000,00

OBS. Caso tenha interesse em saber mais sobre nosso trabalho, deixe seu nome completo e seu e-mail.

ANEXO C - Modelo do questionário descritivo presencial aos produtores que utiliza silagem de RMT

1. Nome do produtor: _____

2. Município/Estado: _____

3. Qual o sistema de produção de sua fazenda?

R: _____

4. Qual o número de vacas em lactação:

R: _____

5. Qual a produtividade média do seu rebanho?

R: _____

6. Todas as vacas em lactação são alimentadas com a silagem de RMT?

R: _____

7. Quais outros alimentos, além da silagem de RMT as vacas consomem?

R: _____

8. A silagem de RMT é formulada para os animais produzirem quantos litros de leite/dia?

R: _____

9. Quantos kg de silagem de RMT são oferecidos por animal diariamente?

R: _____

10. Quantos fardos de silagem de RMT são utilizados diariamente?

R: _____

11. Quanto tempo demora para um fardo da silagem RMT ser consumida?

R: _____

12. Tem sobra no cocho?

R: _____

13. Quantos meses do ano seus animais consomem silagem de RMT?

R: _____

14. A compra da silagem RMT é feita de quanto em quanto tempo?

R: _____

15. O senhor (a) confere a integridade do filme plástico no momento que a silagem de RMT chegou a sua fazenda?

R: _____

16. Já houve problema com furos no filme plástico de vedação da silagem de RMT?

R: _____

17. Quais são as vantagens em usar a silagem de RMT?

R: _____

18. Quais são as desvantagens em usar a silagem de RMT?

R: _____

19. Por quanto tempo o senhor (a) pretende continuar usando a silagem de RMT?

R: _____

9.0 BIOGRAFIA

Rasiel Restelatto, filho de Nadir G. Restelatto e Dilva J. Restelatto nasceu em Lindóia do Sul – Santa Catarina, no dia 12 de abril de 1985.

Em março de 2001, iniciou o segundo grau integrado ao Curso Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Concórdia (Atualmente - Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia), concluído em dezembro de 2003.

Em março de 2004, iniciou seu estágio curricular do Curso Técnico em Agropecuária nos Estados Unidos da América – Wisconsin (em uma fazenda de gado leiteiro por 13 meses) e Minnesota (em uma fazenda de cereais por 6 meses), concluído em setembro de 2005.

No período de dezembro de 2005 a fevereiro de 2008, trabalhou como Técnico Agrícola, na Cooperativa de Produção e Consumo Ltda., de Concórdia (Copórdia), onde atuou como responsável técnico pela qualidade do leite dos associados.

Em fevereiro de 2008, desligou-se da empresa para dar início ao curso de Graduação em Zootecnia, em março do mesmo ano, pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus - Dois Vizinhos, concluído em dezembro de 2011.

Em fevereiro de 2012, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de mestrado na área de concentração: Produção Animal, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, realizando estudos voltados nas áreas de produção e qualidade das forragens anuais de verão e inverno e fertilidade do solo. No mês de fevereiro de 2014, submeteu-se à banca examinadora para defesa da dissertação de mestrado.

No período de janeiro de 2014 a fevereiro de 2015, trabalhou como Zootecnista na Nestlé Sul Alimentos e Bebidas Ltda., onde ocupou o cargo de Supervisor de Distrito Leiteiro, atuando na área comercial e na qualidade do leite das regiões Norte e Noroeste do Rio Grande do Sul.

Em fevereiro de 2015, desligou-se da empresa para retomar a vida acadêmica dando início ao curso de doutorado, em março do mesmo ano, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Paraná, na área de concentração em Nutrição e Produção Animal. Realizando estudos nas áreas de produção e conservação de forragens.

No mês de setembro de 2016, submeteu-se à banca examinadora para o exame geral de qualificação, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Paraná.

No período de fevereiro a agosto de 2017, atuou como Professor Temporário/Substituto no Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia, ministrando as disciplinas de Zootecnia I e Prática Orientada em Zootecnia I para o curso Técnico em Agropecuária.

No período de setembro de 2017 a abril de 2018, participou das atividades no Laboratório Faciola na Universidade da Florida com o Doutor Antonio Faciola, através do Programa de Doutorado Sanduíche no exterior da CAPES, na área de nutrição animal.

Em agosto de 2018, iniciou as atividades como professor na Faculdade de Concórdia (FACC), ministrando as disciplinas de Ecofisiologia das plantas infestantes, e Planejamento e administração rural para o curso de Agronomia.

No mês de setembro de 2018, submeteu-se à banca para defesa da tese.