



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

BIOINOCULANTE NA SILAGEM DE MILHO COM DIFERENTES DENSIDADES DE COMPACTAÇÃO

Antônio Pereira de Barros Neto

**SÃO CRISTÓVÃO - SE
2024**

BIOINOCULANTE NA SILAGEM DE MILHO COM DIFERENTES DENSIDADES DE COMPACTAÇÃO

Antônio Pereira de Barros Neto

Bacharel em Zootecnia
Universidade Federal de Sergipe

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Integrada em Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Braulio Maia de Lana Sousa

Co-orientador: Dr. Fernando Igne Rocha

**SÃO CRISTÓVÃO - SE
2024**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

B277b Barros Neto, Antônio Pereira de
Bioinoculante na silagem de milho com diferentes densidades de compactação / Antônio Pereira de Barros Neto; orientador Bráulio Maia de Lana Sousa. – São Cristóvão, SE, 2024.
44 f. : il.

Dissertação (mestrado integrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, 2024.

1. Zootecnia. 2. Ácidos orgânicos. 3. Ensilagem. 4. Hemicelulose. I. Sousa, Bráulio Maia de Lana, orient. II. Título.

CDU 636.2

CRB5/1603

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**BIOINOCULANTE NA SILAGEM DE MILHO COM DIFERENTES
DENSIDADES DE COMPACTAÇÃO**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Antônio Pereira de Barros Neto

Aprovada em 30 de abril de 2024

Documento assinado digitalmente
 **BRAULIO MAIA DE LANA SOUSA**
Data: 27/06/2024 09:06:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Bráulio Maia de Lana Sousa
Universidade Federal de Sergipe
Orientador

Documento assinado digitalmente
 **ALFREDO ACOSTA BACKES**
Data: 27/06/2024 11:00:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alfredo Acosta Backes
Universidade Federal de Sergipe
Examinador

Documento assinado digitalmente
 **NAILSON LIMA SANTOS LEMOS**
Data: 28/06/2024 12:52:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Nailson Lima Santos Lemos
Universidade federal de Sergipe
Examinador

***Dedico,**
À minha companheira Clara, que me
inspira e me guia. Se eu tivesse mais
alma para dar, eu daria.*

AGRADECIMENTOS

A Clara, que sempre esteve ao meu lado, me dando amor e força. Obrigado por toda inspiração e incentivo a ser melhor a cada dia.

Agradeço à minha família, em especial minha mãe Iêda, minha avó Zenaide e meus irmãos Yuri e Tiago, que sempre estiveram comigo e me ensinaram muito do que sou hoje. Vocês são essenciais na minha vida.

Ao meu orientador, o professor Dr. Braulio Maia de Lana Souza, que desde o início acreditou em mim e me deu suporte e apoio durante toda esta caminhada. Obrigado por comprar minha ideia e por todos os ensinamentos, me espelho muito em ti.

Ao meu coorientador, o Dr. Fernando Igne Rocha, por enxergar meu potencial, por me incentivar a me desafiar e dar sempre o meu melhor e pela grande amizade que carregarei com muito carinho. Sensei, você é uma grande inspiração para mim.

Ao Time da Korin Agricultura e Meio Ambiente, pelo incentivo à pesquisa e a busca constante para a construção de um mundo melhor. Também não posso deixar de citar peças-chave deste time: Jorge, Sergio Homma, Amanda, Dayana, Yuri, Fialho, Rodrigo, Domi, Paulinho, Sakae, Cecília e todos os que não citei, mas que serei eternamente grato por acreditarem neste trabalho, por tudo que me ensinaram e por me apresentarem à agricultura natural e à idealização do paraíso terrestre.

Outra personalidade que não posso deixar de citar é meu primeiro orientador, o Prof. Dr. Claudson Oliveira Brito. Obrigado por ser tão compreensivo e por ter sempre acreditado em mim, muito do que sou hoje se deve aos seus ensinamentos.

Também quero agradecer a todos os professores que participaram direta ou indiretamente, especialmente Alfredo, Juci, Ratinho e Nailson, aos técnicos e funcionários do Campus rural e a todos os alunos do grupo GENAR. Sem vocês este projeto não teria acontecido, sou imensamente grato por todo o suporte e amizade.

APOIO FINANCEIRO

Recurso proveniente da Korin Agricultura e Meio Ambiente LTDA. ao qual este trabalho está vinculado.



BIOINOCULANTE NA SILAGEM DE MILHO COM DIFERENTES DENSIDADES DE COMPACTAÇÃO

RESUMO: Fatores como manejo inadequado e baixa densidade de compactação durante a ensilagem podem levar à deterioração do material ensilado, com perdas de nutrientes e redução da degradabilidade. O desenvolvimento de novas biotecnologias pode apoiar na mitigação destes impactos negativos, melhorando a qualidade da silagem ofertada aos bovinos. O presente estudo mensurou o impacto da aplicação de um bioinoculante oriundo de fermentação predominantemente láctica na ensilagem de milho em diferentes densidades de compactação. Foram conduzidos dois experimentos em condições controladas, utilizando material proveniente de plantas de milho transgênico para garantir uniformidade. No experimento 1, os tratamentos foram compostos por cinco dosagens do bioinoculante em duas densidades de compactação, totalizando dez tratamentos com cinco repetições cada (mini silo cilíndrico de PVC). No experimento 2, a dosagem de 4,0 L por tonelada foi testada frente a um inoculante comercial em duas densidades de estocagem, totalizando quatro tratamentos com cinco repetições cada. As análises realizadas para a avaliação da qualidade fermentativa incluíram a quantificação das perdas fermentativas ao final do processo, as análises de composição química e da degradabilidade *in vitro* do material, além do monitoramento da estabilidade aeróbica para verificar a resistência à deterioração durante a exposição ao ar. Foram aplicadas análises de componentes principais e correlograma para a interpretação de efeitos multivariados entre os tratamentos. Os resultados indicaram interações significativas entre as dosagens do bioinoculante e as densidades de compactação nas variáveis estudadas. No experimento 1, o efeito das densidades foi baixo, sendo compensado pelo uso do bioinoculante, que demonstrou maior desempenho em densidades mais baixas. O uso do bioinoculante reduziu significativamente as perdas fermentativas nas doses 2, 4 e 6 L/ton, obtendo estabilidade aeróbica após a abertura do silo acima de 108h. Além disso, possuía uma maior proporção de hemicelulose e celulose, com valores de pH abaixo de 3,0, mas com redução da degradabilidade e dos carboidratos não fibrosos. No experimento 2, o bioinoculante testado demonstrou maior estabilidade após abertura, chegando a mais de 90h, com pH abaixo de 4,0, enquanto o produto comercial manteve-a por apenas 50h. As perdas nos dois produtos foram abaixo de 10%, e o produto comercial demonstrou maior teor de carboidratos não fibrosos e maior degradabilidade. Portanto, o estudo destaca a eficácia da inclusão de 4L/ton do bioinoculante na redução das perdas e no aumento da estabilidade após a abertura do silo, independentemente da densidade de compactação, evidenciando sua capacidade em modular o processo fermentativo para a rota de preservação da silagem.

Palavras-chave: *Lentilactobacillus buchneri*; Ácidos orgânicos; PCA; Perdas fermentativas; Estresse aeróbico.

BIOINOCULANT IN CORN SILAGE WITH DIFFERENT PACKING DENSITIES

ABSTRACT: Factors such as inadequate management and low packing density during ensiling can lead to the deterioration of the ensiled material, resulting in nutrient losses and reduced degradability. The development of new biotechnologies can help mitigate these negative impacts, improving the quality of silage offered to cattle. This study measured the impact of applying a bioinoculant derived from predominantly lactic fermentation in corn silage at different packing densities. Two experiments were conducted under controlled conditions, using material from transgenic corn plants to ensure uniformity. In Experiment 1, the treatments consisted of five dosages of the bioinoculant at two packing densities, totaling ten treatments with five replicates each (mini PVC cylindrical silo). In Experiment 2, a dosage of 4.0 L per ton was tested against a commercial inoculant at two storage densities, totaling four treatments with five replicates each. Analyses conducted to evaluate fermentation quality included quantifying fermentation losses at the end of the process, chemical composition and in vitro degradability analyses of the material, and monitoring aerobic stability to verify resistance to deterioration during air exposure. Principal component analysis and correlograms were applied to interpret multivariate effects among the treatments. The results indicated significant interactions between bioinoculant dosages and packing densities on the studied variables. In Experiment 1, the effect of densities was low, being compensated by the use of the bioinoculant, which showed better performance at lower densities. The use of the bioinoculant significantly reduced fermentation losses at doses of 2, 4, and 6 L/ton, achieving aerobic stability after silo opening for over 108 hours. It had a higher proportion of hemicellulose and cellulose, with pH values below 3.0, but with reduced degradability and non-fibrous carbohydrates. In Experiment 2, the tested bioinoculant demonstrated greater stability after opening, reaching over 90 hours, with a pH below 4.0, while the commercial product maintained stability for only 50 hours. Losses in both products were below 10%, and the commercial product showed higher levels of non-fibrous carbohydrates and greater degradability. Therefore, the study highlights the efficacy of including 4 L/ton of the bioinoculant in reducing losses and increasing stability after silo opening, regardless of packing density, demonstrating its ability to modulate the fermentation process towards silage preservation..

Keywords: *Lentilactobacillus buchneri*; Organic acids; PCA; Fermentation losses; Aerobic stress.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 3 |
| 2.1. O PROCESSO DE ENSILAGEM | 3 |
| 2.2. CARACTERIZAÇÃO E DESAFIOS DA SILAGEM DE MILHO NO BRASIL | 4 |
| 2.3. ASPECTOS NUTRICIONAIS DA SILAGEM DE MILHO NO BRASIL | 5 |
| 2.4. USO DE BIOINOCULANTES NO PROCESSO DE ENSILAGEM | 7 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 9 |
| 3.1. Experimento 1 | 9 |
| 3.1.1. Local do estudo e condições experimentais | 9 |
| 3.1.2. Análises laboratoriais | 10 |
| 3.1.3. Análises estatísticas e multivariadas | 12 |
| 3.2. Experimento 2 | 13 |
| 4. RESULTADOS | 15 |
| 4.1. Experimento 1 | 15 |
| 4.2. Experimento 2 | 20 |
| 5. DISCUSSÃO | 23 |
| 6. CONCLUSÃO | 26 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |
| INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES | 31 |

1. INTRODUÇÃO

O milho tem sido a alternativa mais utilizada para suprir a demanda de silagem nos sistemas de produção de ruminantes no Brasil, por sua facilidade de cultivo, comercialização e características desejáveis (teor de matéria seca, proporção de carboidratos solúveis e capacidade tampão adequados) para a realização do processo de ensilagem (MORAES et al., 2013).

No entanto, manejos inadequados, como enchimento lento do silo, compactação insuficiente e vedação imperfeita, promovem maior exposição ao oxigênio no silo. Essa condição prejudica o processo fermentativo, estimulando o desenvolvimento de leveduras assimiladoras de lactato e *Acetobacter*, que podem iniciar a deterioração do material ensilado, gerando perdas de nutrientes por lixiviação em efluentes e gases e a redução da digestibilidade do material (NEGRÃO et al., 2016; BRÜNING et al., 2018).

Dentre os fatores limitantes para uma boa qualidade da silagem, a baixa densidade de compactação destaca-se por permitir maior porosidade no material ensilado e, conseqüentemente, maior quantidade de ar para o interior do silo. Fatores como estágio de maturidade da planta ou a limitação de máquinas adequadas, proporcionam aumento do tamanho médio das partículas e dificultam a compactação do material (JOBIM et al., 2007; KRÜGER et al., 2017). Estudo realizado com produtores ligados a um laticínio, cerca de 65% não avaliam a densidade de compactação, sugerindo que esta variável tem sido negligenciada (HEGUY et al., 2016).

Neste contexto, considerando a importância de otimizar a qualidade da silagem e mitigar os problemas decorrentes da baixa densidade de compactação, alternativas como o uso de bioinoculantes tornam-se essenciais. Esses aditivos podem beneficiar o processo fermentativo, diminuir perdas e melhorar o valor nutritivo e a digestibilidade da biomassa ensilada (SCHMIDT et al., 2014).

A combinação estratégica de diferentes microrganismos é fundamental para maximizar a eficácia dos bionoculantes na preservação da silagem (GANZORIG et al., 2016). Bactérias Ácido-láticas (BAL) heterofermentativas facultativas, como *Lactobacillus plantarum*, são eficazes na redução rápida do pH da silagem e controle inicial de microrganismos indesejados. Em contrapartida, BAL heterofermentativas obrigatórias, como *Lentilactobacillus buchneri*, convertem o ácido láctico em ácido acético e propiônico, que possuem ação antifúngicas, garantindo uma estabilidade aeróbica prolongada após a abertura do silo (POLUKIS et al., 2016; COSTA et al., 2017).

A hipótese proposta a partir deste estudo é de que a utilização de um bioinoculante composto por bactérias ácido lácticas e ácidos orgânicos oriundos do processo fermentativo pode reduzir os efeitos negativos da menor densidade de compactação sobre a qualidade da silagem de milho. Para tal, tem-se como objetivos: determinar a dosagem ideal do bioinoculante e testá-lo frente a um inoculante comercial, considerando a correlação entre as perdas fermentativas, o perfil bromatológico, a estabilidade aeróbica e a digestibilidade *in vitro* da silagem de milho em duas densidades de compactação.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. O PROCESSO DE ENSILAGEM

O processo de ensilagem pode ser entendido como uma sucessão de eventos químicos e microbiológicos que ao final se estabilizam, preservando o material ensilado até o momento de sua utilização. Este processo pode se subdividir em fases.

A primeira é a aeróbica e ocorre durante o enchimento do silo e se prolonga até a exaustão do oxigênio (JOBIM e NUSSIO, 2013). A presença do oxigênio, somada à disponibilidade de carboidratos solúveis e nutrientes no alimento que está sendo ensilado, aumenta a respiração celular e proporciona um ambiente ideal para a atividade de microrganismos indesejados, autóctones do alimento, como leveduras, fungos filamentosos e enterobactérias. Conseqüentemente, ocorre a produção de gás carbônico, a ativação de enzimas proteolíticas e a geração de amônia, acetato, etanol, água e calor (MCALLISTER e HRISTOW, 2000; PAHLOW et al., 2003). Apesar de inevitável, esta fase deve ocorrer em menor tempo, evitando perdas elevadas dos nutrientes.

A segunda fase pode ser subdividida entre anaeróbica 1 e 2 (JOBIM e NUSSIO, 2013). Após o consumo do oxigênio residual por microrganismos aeróbicos, a fase anaeróbica 1 tem início. Esta é caracterizada pela ascensão das bactérias ácido lácticas, que consomem os carboidratos solúveis e produzem ácidos, como láctico e acético, dando início à acidificação do material (PAHLOW et al., 2003). Isso inibe as bactérias fibrolíticas e parte das heterofermentativas neutrófilas, dando início à fase anaeróbica 2 (JOBIM e NUSSIO, 2013).

Na segunda parte da fase anaeróbica há somente a presença das bactérias lácticas homo e heterofermentativas, que reduzem rapidamente o pH, a partir da produção de ácido acético, atingindo um valor de aproximadamente 3,8, iniciando a terceira fase do processo (PAHLOW et al., 2003; JOBIM e NUSSIO, 2013).

Após o pH atingir o valor de 3,8, há a saturação ácida do ambiente e a fase de estabilidade aeróbia se inicia, onde há a inatividade microbiana e o pH se mantém estável (MCDONALD et al., 1991). Esta é a fase mais esperada, uma vez que, atingida a estabilidade, o material pode permanecer armazenado por longos períodos.

A última fase consiste na instabilidade aeróbia, caracterizada pela exposição do material ensilado ao oxigênio após a abertura do silo. Nesta fase, o crescimento de leveduras é beneficiado. Estas são responsáveis por acelerar a degradação de carboidratos e ácido láctico, produzindo dióxido de carbono, calor, água e reduzindo o teor de ácidos

no material, contribuindo com o aumento do pH e beneficiando o desenvolvimento de microrganismos indesejados (KLEINSCHMIT et al., 2005; LIU et al., 2020).

2.2. CARACTERIZAÇÃO E DESAFIOS DA SILAGEM DE MILHO NO BRASIL

O Brasil possui um clima tropical, que permite longa estação de crescimento, possibilitando duas colheitas ao ano, tornando o milho uma das principais matérias-primas utilizadas na alimentação animal. Depois da soja, o milho é a segunda cultura mais cultivada no país, ocupando cerca de 22 milhões de hectares da área plantada, na safra 22/23 (CONAB, 2023).

Em dietas de ruminantes, a planta ou o grão de milho são a principal alternativa ao pasto, seja em sistemas intensivos ou durante parte do ano em sistemas a pasto. De acordo com Bernardes e Do Rêgo (2014), 82,7% dos produtores de leite no Brasil utilizam silagem de milho isolada ou combinada com outras forrageiras.

Uma avaliação recente dos programas de alimentação com silagem usada por rebanhos leiteiros de alta produção mostrou que a silagem de milho foi fornecida em todas as propriedades (BERNARDES et al., 2018). Na pecuária de corte, a silagem de milho e suas variações são a principal fonte de forragem em dietas de terminação (OLIVEIRA e MILLEN, 2014; PINTO e MILLEN, 2016).

Com relação à compactação durante o processo de ensilagem, fatores como tipo de colheitadeira e sua capacidade de redução de partículas, processamento do grão e velocidade de enchimento do silo, impactam diretamente na densidade de compactação e na qualidade da silagem.

Colheitadeiras automotrizes podem alcançar taxas de enchimento dos silos de 150 a 180 t/h, enquanto colheitadeiras acopladas a tratores alcançam taxas de 10 a 15 t/h e redução da uniformidade de partículas (CARVALHO e STRACK, 2015). No Brasil, aproximadamente 90,4% das propriedades leiteiras utilizam colheitadeiras acopladas a tratores, enquanto na pecuária de corte a maior parte dos produtores utilizam automotrizes a partir de serviços terceirizados (BERNARDES et al., 2012; BERNARDES e DO RÊGO, 2014).

A densidade de compactação é fator crucial na qualidade da silagem e pode ser influenciada pelo tamanho médio de partícula, umidade do material e eficiência da compactação da planta forrageira. Partículas de forragem cortadas em tamanhos acima de

19 mm podem aumentar a porosidade da silagem, reduzindo a compactação do material e proporcionando maior oxigênio residual, levando a deterioração do material pela respiração da planta e o crescimento de microrganismos indesejáveis (BRÜNING et al., 2018; KUNG et al., 2018). Além disso, a redução da densidade de compactação diminui a estabilidade aeróbica após a abertura e aumenta as perdas durante o uso (HENTZ et al., 2017; KRÜGER et al., 2017).

A deterioração mais grave ocorre nas áreas laterais e superiores dos silos, que são frequentemente difíceis de selar e compactar corretamente, devido a uma pressão insuficiente. Portanto, o material de cobertura utilizado deve essencialmente proteger contra danos externos, ser resistente à exposição prolongada aos raios ultravioleta e garantir condições anaeróbicas no armazenamento (BERNARDES, 2016; GALLO et al., 2016).

Problemas ambientais relacionados à silagem incluem a queima de combustíveis fósseis, produzindo gás carbônico (CO₂), as emissões de compostos orgânicos voláteis, como ácido acético e etanol, e a produção de efluentes. Para mitigar esses problemas, é necessário aumentar a eficiência do processo de ensilagem, levando em consideração a temperatura ambiente, o tempo após o desbaste da camada de silo e o uso de aditivos, reduzindo as perdas de nutrientes (DANIEL et al., 2015₂).

2.3. ASPECTOS NUTRICIONAIS DA SILAGEM DE MILHO NO BRASIL

A produção de milho em climas quentes influencia a lignificação da parede celular vegetal, reduzindo a digestibilidade da fibra e o teor de amido, limitando a oferta de nutrientes para os animais (MOORE e JUNG, 2001; ADESOGAN, 2010). Além disso, no Brasil, as sementes híbridas tendem a ter maior proporção de endosperma vítreo, outro fator nutricionalmente limitante, uma vez que a dureza do endosperma do grão está relacionada à menor degradação ruminal do amido (XINXIN et al., 2021).

Outro aspecto fundamental para melhorar o valor nutricional da silagem é o processamento adequado dos grãos de milho. Utilizar colheitadeiras automotrizes com comprimentos de corte adequado pode aumentar a digestibilidade do amido, o consumo de ração e o desempenho de bovinos leiteiros (SALVATI et al., 2021). No entanto, a maioria das máquinas usadas no Brasil são colheitadeiras acopladas a tratores, que não possuem processadores de grãos (BERNARDES e DO RÊGO, 2014).

A temperatura ambiente e o tempo de armazenamento podem influenciar nas perdas fermentativas e na digestibilidade do amido da silagem. Elevadas temperaturas associadas a curtos períodos de estocagem aumentam as perdas fermentativas e reduzem a estabilidade aeróbica e a degradabilidade ruminal do amido, proteína e da fibra (DANIEL et al., 2015¹, BUENO et al., 2017). As perdas fermentativas aumentam a concentração de compostos voláteis (ácidos, álcoois e ésteres) que possuem efeitos negativos potenciais da silagem, afetando o desempenho de vacas leiteiras (RAUN e KRISTENSEN, 2010; WEISS et al., 2016).

A composição mineral da silagem de milho, embora estável durante a ensilagem, pode sofrer alterações em sua proporção, em relação à composição bromatológica do alimento (WANG et al., 2020). Diversos fatores influenciam essa concentração, como perda de matéria orgânica, densidade de compactação, uso de bioinoculantes, pH da silagem, maturidade da planta e presença de minerais específicos, como cálcio, fósforo, potássio e magnésio (KUNG et al., 2018; WANG et al., 2020). Gerenciar esses fatores durante a ensilagem é crucial para garantir a qualidade da silagem e a nutrição adequada dos animais, pois o cálcio melhora a saúde óssea, o fósforo é vital para o metabolismo, o potássio mantém o equilíbrio hídrico e o magnésio é essencial para enzimas, influenciando na absorção de nutrientes e saúde animal (KUNG et al., 2018).

O conteúdo de extrato etéreo (EE) na silagem de milho está relacionado à eficiência da fermentação e à preservação de lipídios, influenciando diretamente a qualidade, a palatabilidade e o consumo da silagem pelos animais (KUNG et al., 2018). Fatores como maturidade da planta, tipo de bioinoculante e condições de armazenamento impactam a proporção de ácidos graxos na silagem (WANG et al., 2020).

A Fibra em Detergente Neutro (FDN) constitui a parede estrutural da planta e é formada principalmente por hemicelulose (fibra digestível), celulose (potencialmente digestível, a depender do tempo de retenção no rúmen) e lignina (composto fenólico indigestível), sendo a Fibra em Detergente Ácido (FDA) composta principalmente por celulose indigestível e lignina (VAN SOEST et al., 1991). A redução destas porções digestíveis do alimento durante a ensilagem é dependente da densidade de compactação e da utilização ou não de bioinoculantes (ARRIOLA et al., 2021).

Segundo Arriola et al., (2021), a proteína indigestível e a digestibilidade da matéria seca são influenciadas pelas perdas ocorridas durante o processo de ensilagem, uma vez que condições inadequadas, como má compactação ou selagem, podem causar estresse e levar à perda de componentes mais digestíveis da forragem. Essas perdas

reduzem a qualidade nutricional da silagem, resultando em uma maior proporção de proteína indigestível e menor digestibilidade da matéria seca, o que prejudica a alimentação dos animais.

2.4. USO DE BIOINOCULANTES NO PROCESSO DE ENSILAGEM

A utilização de bioinoculantes que contenham diferentes espécies de Bactérias Ácido Láticas (BAL), em dosagens adequadas, pode prevenir a deterioração da silagem durante o armazenamento e aumentar sua estabilidade após abertura do silo. No Brasil, cerca de um quarto dos agricultores utiliza bioinoculantes biológicos, normalmente com BAL como *Lactobacillus plantarum* e *Lentilactobacillus buchneri*, que são eficazes na prevenção de perdas e da deterioração aeróbica (BERNARDES et al., 2012; NOVINSKI, 2013; BERNARDES e DO RÊGO, 2014;).

Os bioinoculantes utilizados no processo de ensilagem podem ser classificados pelo seu mecanismo de ação, sendo estimulantes de fermentação, como as BAL heterofermentativas facultativas e melhoradores da estabilidade aeróbica, como as BAL heterofermentativas obrigatórias (MUCK et al., 2018).

As espécies *L. plantarum*, *L. casei*, *Enterococcus faecium* e *Pediococcus spp.*, conhecidas como bactérias lácticas homofermentativas, foram reclassificadas como heterofermentativas facultativas e possuem como principal característica a oxidação de hexoses em ácido láctico, além de produzirem a enzima fosfoctolase, que oxida pentoses em ácido láctico e ácido acético (OLIVEIRA et al., 2017, MUCK et al., 2018).

Estas características permitem reduzir rapidamente o pH da silagem, reduzindo a população de microrganismos patogênicos (indesejados) e a produção de ácido butírico, amônia e etanol, auxiliando em silagens com baixa densidade e alta umidade (OLIVEIRA et al., 2017). Entretanto, seu uso pode não afetar ou reduzir a estabilidade aeróbica após abertura de silagem de milho, uma vez que neste momento as leveduras utilizarão o ácido láctico como substrato para se desenvolverem (OLIVEIRA et al., 2017).

Em contrapartida, as espécies *L. buchneri*, *L. hilgardii* e *L. parafarragins* são exemplos de BAL heterofermentativas obrigatórias, caracterizadas pela conversão anaeróbica de ácido láctico em ácido acético e 1,2-propanodiol (KROONEMAN et al., 2002). Estes ácidos são compostos antimicrobianos, que permitem a manutenção da estabilidade aeróbica da silagem de milho por um maior período após a abertura do silo, uma vez que limitam o desenvolvimento de leveduras e microrganismos indesejados

(ASSIS et al., 2014; LIU et al. 2014; POLUKIS et al., 2016; COSTA et al., 2017;). A combinação destes microrganismos parece ser uma estratégia viável para equilibrar os benefícios e as desvantagens dos mesmos (GANZORIG et al., 2016; ARRIOLA et al., 2021;).

Microrganismos como os *Streptococcus bovis*, *Propionibacterium spp* e *Bacillus subtilis* também podem ser utilizados como bioinoculantes de silagem para aumentar a eficiência da acidificação da silagem, reduzindo a população de microrganismos indesejados, as perdas e a produção de compostos orgânicos voláteis. Estes microrganismos também produzem compostos antifúngicos, como os ácidos e acético e propiônico, que melhoram a estabilidade aeróbica após abertura do silo (FERREIRA et al., 2013; LARA et al., 2016).

Na prática, deve-se considerar durante o uso de bioinoculantes a correlação negativa entre a temperatura e o tempo de retenção no tanque de aplicação e a viabilidade dos microrganismos, fazendo-se necessário o uso de tanques que reduzam a absorção de calor e a maior frequência de abastecimento destes (MULROONEY e KUNG, 2008).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Experimento 1

3.1.1. Local do estudo e condições experimentais

O experimento foi conduzido nas dependências da Universidade Federal de Sergipe (UFS), localizada no município de São Cristóvão - SE.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial (5x2) com delineamento inteiramente casualizado. Foram testadas cinco dosagens (0, 2, 4, 6 e 8 L/Ton) de um bioinoculante desenvolvido pela empresa Korin Agricultura e Meio Ambiente LTDA. (código de identificação CPMO-06.03.01.02.02/2023), contendo $4,0^8$ UFC/ml de bactérias ácido lácticas, resultando em aplicações teóricas finais de 0^0 ; 8^{11} ; $1,6^{12}$; $2,4^{12}$; $3,2^{12}$ UFC/ml de forragem fresca, respectivamente. As dosagens foram aplicadas com auxílio de um pulverizador em duas densidades de compactação (400 e 550 kg/m³), com 5 repetições por tratamento, totalizando 10 tratamentos e 50 unidades experimentais. Para aplicar o mesmo volume em todos os tratamentos, as doses foram diluídas em água destilada.

No mês de outubro de 2023, as plantas de milho transgênico (1879903903 – SMH SHS SUPER CSL 60S planta inteira) foram colhidas manualmente a 40 cm do solo, com cerca de 33% de matéria seca e processadas em máquina forrageira estacionária (MC1001N Laboremus®) em partículas de aproximadamente 19 mm. A forragem processada foi replicada em 10 pilhas individuais, com 100 kg cada, para aplicação do bioinoculante, em seus respectivos tratamentos.

Este bioinoculante foi produzido com tecnologia desenvolvida pelo Centro de Pesquisa Mokiti Okada, baseada na fermentação anaeróbica, predominantemente láctica, de matérias-primas não estéreis inoculadas, com diferentes espécies de bactérias ácido lácticas (*L. plantarum* e *L. Buchneri*) e gerando ácidos láctico e acético. O produto foi preparado e diluído em uma solução final de 10 L, nas proporções: 9 L água mineral + 150 g HIBANA (fonte de carboidratos e aminoácidos) + 1 litro do bioinoculante, com o intuito de estimular o desenvolvimento dos microrganismos. A solução foi homogeneizada e o recipiente fechado não hermeticamente por um período de três dias.

Posteriormente, a forragem de cada pilha foi pesada e o volume necessário para o enchimento dos silos experimentais nas densidades especificadas foi distribuído em cinco

silos experimentais (material PVC com 150 mm de diâmetro e 500 mm de altura), representando as repetições de cada tratamento e compactada com soquetes de madeira.

Todos os silos possuíam câmara de absorção de efluentes, preenchida com areia fina peneirada, lavada e esterilizada à temperatura de 105° C e coberta por um tecido fino de algodão e tela de nylon. Os silos foram vedados com tampa em PVC, contendo válvula do tipo “Bunsen”, selados com silicone e armazenados em local fechado pelo período de 45 dias em temperatura ambiente.

3.1.2. Análises laboratoriais

As análises foram categorizadas em diferentes aspectos funcionais: 1) Perdas fermentativas, incluindo perdas na matéria seca (PMS), perdas por efluentes (PE), perdas por gases (PG) e concentração de nitrogênio amoniacal (NH₃); 2) Perfil bromatológico, abrangendo matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose, lignina, carboidratos não fibrosos (CNF), proteína bruta (PB), proteína indigestível em detergente neutro e ácido (PIDN e PIDA); 3) degradabilidade in vitro, avaliando o desaparecimento e a degradabilidade in vitro da matéria seca; e 4) Estabilidade e pH após a abertura do silo.

Para determinar as perdas de matéria seca por gases e efluentes, foi utilizada metodologia proposta por Jobim et al. (2007). Para tanto, foram mensurados os pesos dos minis silos vazios e cheios, antes e após a ensilagem, bem como os respectivos teores de matéria seca da silagem (no fechamento e na abertura do silo).

As perdas de matéria seca foram determinadas pela equação:

$$PMS = \frac{(MSi - MSf)}{MSi} \cdot 100$$

Onde: PMS (Perda de matéria seca total); MSi (Quantidade de MS na ensilagem); MSf (Quantidade de MS na abertura).

As perdas por gases foram estimadas pela equação:

$$PG = \frac{[(PCen - Pen) \cdot MSen] - [(PCab - Pen) \cdot MSab]}{[(PCen - Pen) \cdot MSen]} \cdot 100$$

Onde: PG (Perdas por gases); PCen (Peso, em quilos, do silo cheio na ensilagem); Pen (Peso, em quilos, na ensilagem do conjunto silo, tampa, areia, tela, tecido); MSen (Teor

de MS da forragem na ensilagem); PCab (Peso, em quilos, do silo cheio na abertura); MSab (Teor de MS da forragem na abertura).

As perdas por efluentes foram estimadas pela equação:

$$PE = \frac{(Pab - Pen)}{MVfe} \cdot 1000$$

Onde PE (Produção de efluente, quilos por tonelada de massa verde); Pab (Peso, em quilos, na abertura do conjunto silo, tampa, areia, tela, tecido); Pen (Peso, em quilos, na ensilagem do conjunto silo, tampa, areia, tela, tecido); MVfe (Massa verde, em quilos, de forragem ensilada). A determinação de nitrogênio amoniacal foi realizada segundo metodologia descrita por Bolsen et al. (1992).

Após determinação das perdas, amostras de 500g da forragem fresca e da silagem em cada silo foram coletadas, pesadas e secas em estufa, com circulação forçada de ar (55°C), por 72 horas. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey e peneiradas em malha de 1,0 mm. Posteriormente, foram determinados os teores de matéria seca (MS), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM), de acordo com metodologia descrita em AOAC (2012). O teor de nitrogênio foi determinado pelo método de *Kjeldahl*, sendo teor de proteína bruta calculado pelo fator 6,25xN.

A determinação da fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína indigestível em detergente neutro (PIDN) e Proteína indigestível em detergente ácido (PIDA) foram realizadas segundo Van Soest et al. (1991), modificada por Senger et al. (2008). O teor de lignina em detergente ácido foi obtido utilizando ácido sulfúrico 72% conforme Goering e Van Soest (1970).

A hemicelulose foi mensurada pela diferença entre FDN e FDA e a celulose (CEL) pela diferença entre FDA e Lignina. O percentual dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi obtido pela equação desenvolvida por Sniffen et al. (1993), onde: **CNF = 100 - (PB + FDN + EE + MM)**.

Foram coletadas amostras de 5 g de cada silo para cada tratamento, com cinco repetições, totalizando 25g de amostra, composta para mensurar o desaparecimento e degradabilidade *in vitro* da matéria seca. O líquido ruminal foi coletado em um frigorífico com Serviço de Inspeção Federal e mantido em garrafas térmicas a 39°C, para transporte ao laboratório. O inóculo ruminal foi testado para viabilidade antes da incubação pelo teste de redução de azul de metileno (DIRKSEN, 1993).

As amostras compostas de 25g foram incubadas em *filter bags*, junto a uma solução de incubação (20%) e inóculo ruminal (80%), acrescido de dióxido de carbono, em estufa a 39°C, por 48 horas, com agitação a cada 4 horas para simular o ambiente ruminal (THEODOROU et al., 1994; MOULD et al., 2005). Após a incubação, os *filter bags* foram lavados com água destilada, secados por 24 horas em estufa a 105 °C e pesados para determinar o desaparecimento da matéria seca. Posteriormente o material foi queimado em mufla a 600°C por 3 horas, para determinar a degradabilidade verdadeira da matéria seca, conforme metodologia proposta por Goering e Van Soest (1970), através da lavagem do resíduo de incubação com solução detergente neutro concentrada e acetona, secos em estufa a 105°C durante 8 horas e, em sequência, pesados.

A estabilidade aeróbia foi determinada utilizando a metodologia proposta por Kung et al. (2000), que estima a perda da estabilidade pelo tempo necessário para que a temperatura da silagem aumente em 2°C em relação à temperatura média do ambiente. Aproximadamente 2,0 kg de silagem de cada unidade experimental foram alocadas em caixas de isopor, com capacidade de 5,0 L, em um ambiente com temperatura constante de 25°C±1,5 (temperatura média da região), por 108 horas. As leituras de temperatura foram realizadas a cada 4 horas, utilizando termômetro digital com haste de inox.

No momento da abertura do silo e, posteriormente, a cada 8 h após exposição ao ar, amostras de silagem foram coletadas para determinação do pH, de acordo com os procedimentos descritos em AOAC (2012).

3.1.3. Análises estatísticas e multivariadas

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do ambiente de programação RStudio versão 4.0.2 (*R Project*, 2023). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e os dados obtidos foram submetidos a ANOVA, considerando as diferentes densidades de compactação, como efeito aleatório e as dosagens do bioinoculante e sua interação como efeitos fixos.

Para facilitar a inspeção dos dados e ajudar na detecção de padrões ocultos, a matriz de correlação de Pearson foi calculada para avaliar as associações lineares entre as variáveis

de interesse e representada por meio de um correlograma visualmente informativo, através da função do pacote ‘corrplot’ (WEI et al, 2021).

Com o auxílio do pacote ‘factoextra’ (KASSAMBARA & MUNDT, 2020), a Análise de Componentes Principais (PCA) foi empregada para reduzir a dimensionalidade dos dados e identificar os padrões e as características mais importantes para distinguir os fatores estudados em relação às variáveis de interesse na silagem de milho. A interpretação dos resultados concentrou-se nas principais tendências identificadas pelos componentes principais e nas variáveis que mais contribuíram para esses padrões. Os valores de contribuição foram examinados para avaliar a relevância relativa das variáveis nos dois primeiros componentes principais.

Após identificar a correlação entre as variáveis e o comportamento dos fatores em relação a estas, foram aplicados modelos de regressão linear e polinomial entre as variáveis que demonstraram maior contribuição para diferenciação entre os tratamentos (i.e., dose x densidade).

3.2. Experimento 2

O Experimento 2 foi realizado a fim de averiguar a capacidade de melhoria nas propriedades da silagem pelo bioinoculante avaliado em comparação a um inoculante comercial, contendo diferentes espécies de bactérias ácido lácticas (*L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *P. acidilactici*, *E. faecium*, *L. buchneri*, *L. lactis*, *P. acidipropionici*), na concentração de concentração de 10^{11} UFC/g e enzima celulolítica 5%, na dosagem de 2 L/Ton, recomendada pelo fornecedor.

O Experimento 2 foi realizado num esquema fatorial 2×2 , sendo a dosagem bioinoculante que demonstrou melhores resultados (4 L/Ton) e o produto comercial (2 L/Ton), em duas densidades de compactação (400 e 550 kg/m³), perfazendo quatro tratamentos com cinco silos como repetições, totalizando 20 unidades experimentais.

As categorias funcionais de análises descritas anteriormente no Experimento 1 foram aplicados neste segundo experimento. As análises estatísticas, realizadas com o auxílio do ambiente de programação RStudio versão 4.0.2 (*R Project*, 2023) incluíram a análise exploratória dos componentes principais (PCA), o teste de normalidade (Shapiro Wilk), a

ANOVA, e, para identificar as diferenças entre os tratamentos, o teste Tukey foi aplicado com 5% de probabilidade nas variáveis que demonstraram maior contribuição para diferenciação entre os tratamentos.

4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1

Os resultados obtidos através da análise de variância descritos na Tabela 1 (Informações Complementares) demonstraram efeito da interação em 11 das 24 variáveis estudadas. Tais variáveis estiveram relacionadas ao perfil bromatológico da planta (MM, EE, PIDA, CNF, FDN, FDA, hemicelulose, celulose e lignina) e ao desaparecimento e degradabilidade da matéria seca.

Avaliando os fatores de modo isolado, as dosagens do bioinoculante foram significativas para todas as variáveis, enquanto a densidade de compactação foi significativa para MS, CNF, FDN, hemicelulose, celulose, lignina, o desaparecimento e a degradabilidade da matéria seca e as perdas por efluentes.

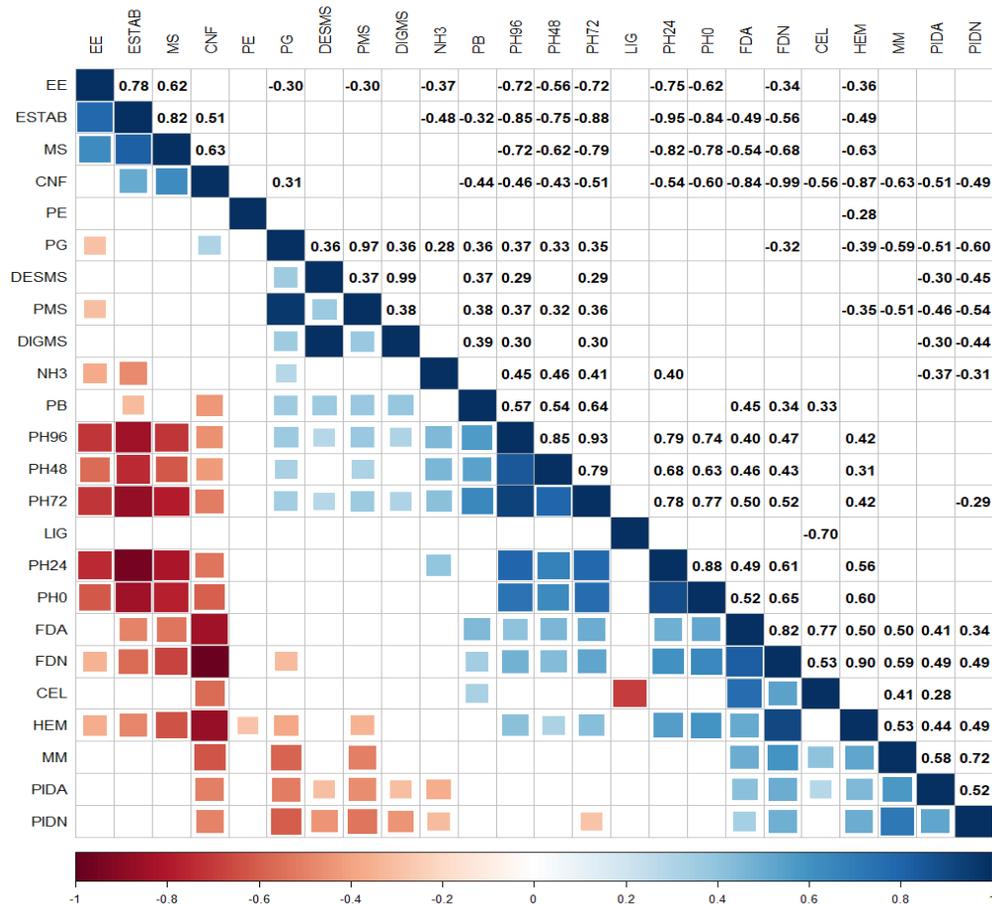
No correlograma (Figura 1), foram exploradas as correlações estatisticamente significativas entre as variáveis de interesse, considerando o tamanho dos efeitos da acurácia dos valores de correlação de Pearson sugerida por Rumsey (2016): fraca ($r \pm |0, 30|$); moderada ($r \pm |0,50|$); forte $r \pm |0, 70|$).

Um importante primeiro grupo de variáveis incluindo matéria seca, extrato etéreo, estabilidade aeróbica após abertura do silo e carboidratos não fibrosos, exibe correlações positivas moderadas a fortes entre si, sugerindo que modificações em uma dessas variáveis podem afetar as demais de maneira similar, com uma resposta coesa em determinadas condições.

Compensatoriamente, estas variáveis mostram uma correlação negativa com componentes associados à fibra, como fibra em detergente ácido, fibra em detergente neutro e hemicelulose, além do pH após abertura do silo, que compõe um segundo grupo de variáveis com correlações positivas entre si. Isso aponta para uma relação inversa entre a presença de fibras e a estabilidade aeróbica no processo de ensilagem.

Adicionalmente, variáveis que determinam as perdas durante o processo de fermentação, como PG, PMS e NH_3 , possuíram correlação positiva fraca a moderada, com o pH no tempo, e negativa com a estabilidade, indicando influência das perdas no processo de redução da estabilidade após a abertura da silagem.

Figura 1 Correlograma entre as variáveis mensuradas no estudo e seus coeficientes de correlação de Pearson.



Correlação positiva (azul) e negativa (vermelho). A intensidade da cor representa a magnitude da correlação. No triângulo superior estão plotados os valores dos coeficientes. Correlações não significativas ($p > 0,05$), foram deixadas em branco.

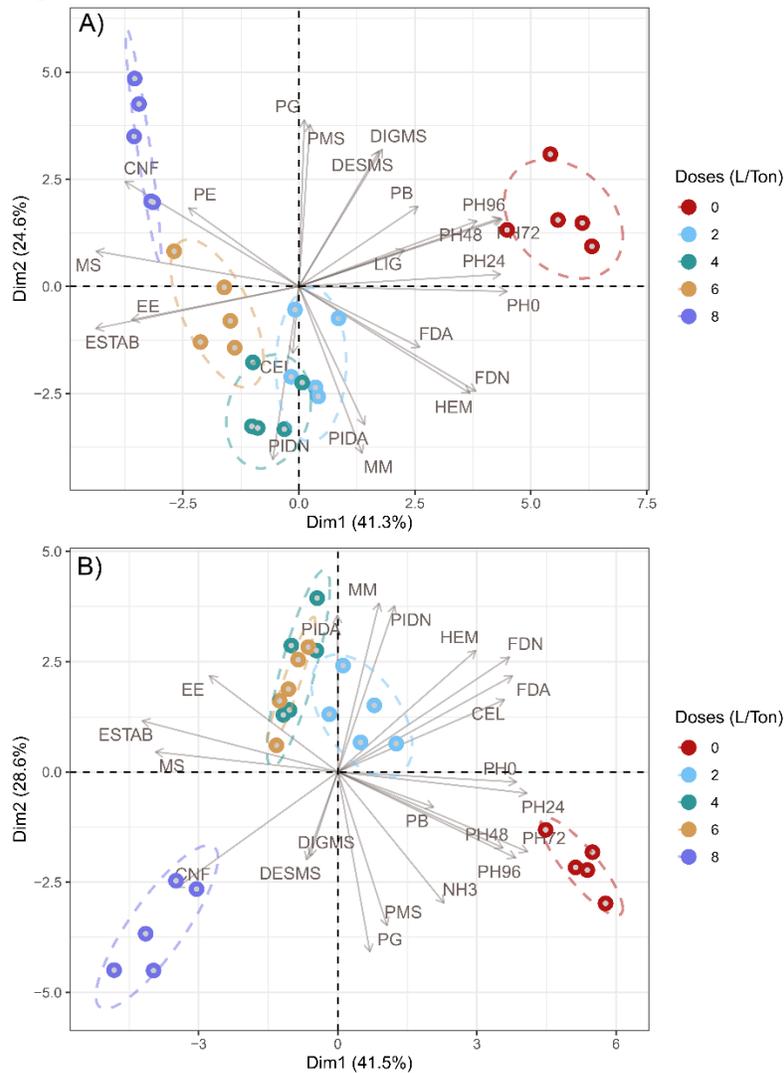
Estas e outras correlações existentes entre as variáveis encontradas no correlograma são observadas e exploradas nas análises de componentes principais (PCA) (Figura 2), para fornecer informações sobre a contribuição de cada variável e, neste caso, a relação entre os agrupamentos encontrados e as dosagens aplicadas nas diferentes densidades de compactação.

As análises representam os resultados das dosagens nas duas densidades de compactação exploradas. Os dois primeiros componentes principais (dimensões 1 e 2) explicam, conjuntamente, cerca de 65% da variação dos dados nas duas densidades.

Os gráficos demonstram um comportamento semelhante entre as densidades de compactação (Figura 2A e 2B), com destaque na eficácia do bioinoculante que formou

agrupamentos (tracejados em azul, verde, amarelo e lilás) relacionados à modulação das propriedades físico-químicas da silagem de milho, principalmente em uma condição de menor densidade de compactação, onde os efeitos foram mais evidentes a partir do maior distanciamento entre os agrupamentos formados (figura 2B).

Figura 2 Gráficos de dispersão dos componentes principais da silagem de milho. A) PCA das doses aplicadas na maior densidade (550 kg/m³); B) PCA das doses aplicadas na menor densidade (400 kg/m³).



MS (Matéria seca); MM (Matéria mineral); EE (Extrato etéreo); FDN e FDA (Fibra em detergente neutro e ácido, respectivamente); HEM (Hemicelulose); CEL (Celulose); LIG (Lignina); CNF (Carboidrato não fibroso); PB (Proteína Bruta); PIDN e PIDA (Proteína indigestível em detergente neutro e ácido, respectivamente); DESMS e DIGMS (desaparecimento e degradabilidade *in vitro* da matéria seca, respectivamente); PMS (Perdas na matéria seca); PG (Perdas por efluentes); PG (Perdas por gases); NH3 (Nitrogênio Amoniacal); ESTAB (Estabilidade aeróbica); PH0, PH24, PH48, PH72 e PH96 (pH no momento de abertura, após 24h, após 48h, após 72h, após 96h, respectivamente).

Na dimensão 1, a ausência do bioinoculante (0 L/Ton) contribuiu para uma fermentação menos eficiente, havendo aumento do pH e da produção de nitrogênio amoniacal, com maiores proporções de fibras e redução da matéria seca, extrato etéreo, estabilidade e carboidratos não fibrosos. A inoculação com 8 L/Ton do bioinoculante comportou-se de forma inversa à ausência do bioinoculante, sugerindo uma fermentação mais eficiente com uma degradação mais completa dos componentes fibrosos. As doses 2, 4 e 6 L/Ton apresentaram características intermediárias nesta dimensão, indicando uma resposta gradual à dosagem do bioinoculante, o que indica que a eficácia está relacionada à dosagem aplicada.

Na dimensão 2 as doses 2, 4 e 6 L/Ton se destacaram pelo distanciamento com o nitrogênio amoniacal, as perdas por gases e efluentes, bem como a degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta, em relação aos demais tratamentos. Isso sugere que, nessas dosagens intermediárias, o efeito positivo do bioinoculante reduziu as perdas de nutrientes, contribuindo para uma melhor qualidade nutricional da silagem.

Considerando as duas dimensões, pode-se observar um equilíbrio nas dosagens intermediárias e limitações nos resultados de perdas com maior dosagem ou ausência do bioinoculante, sugerindo que as variáveis em destaque podem explicar de forma eficiente o efeito dos fatores estudados.

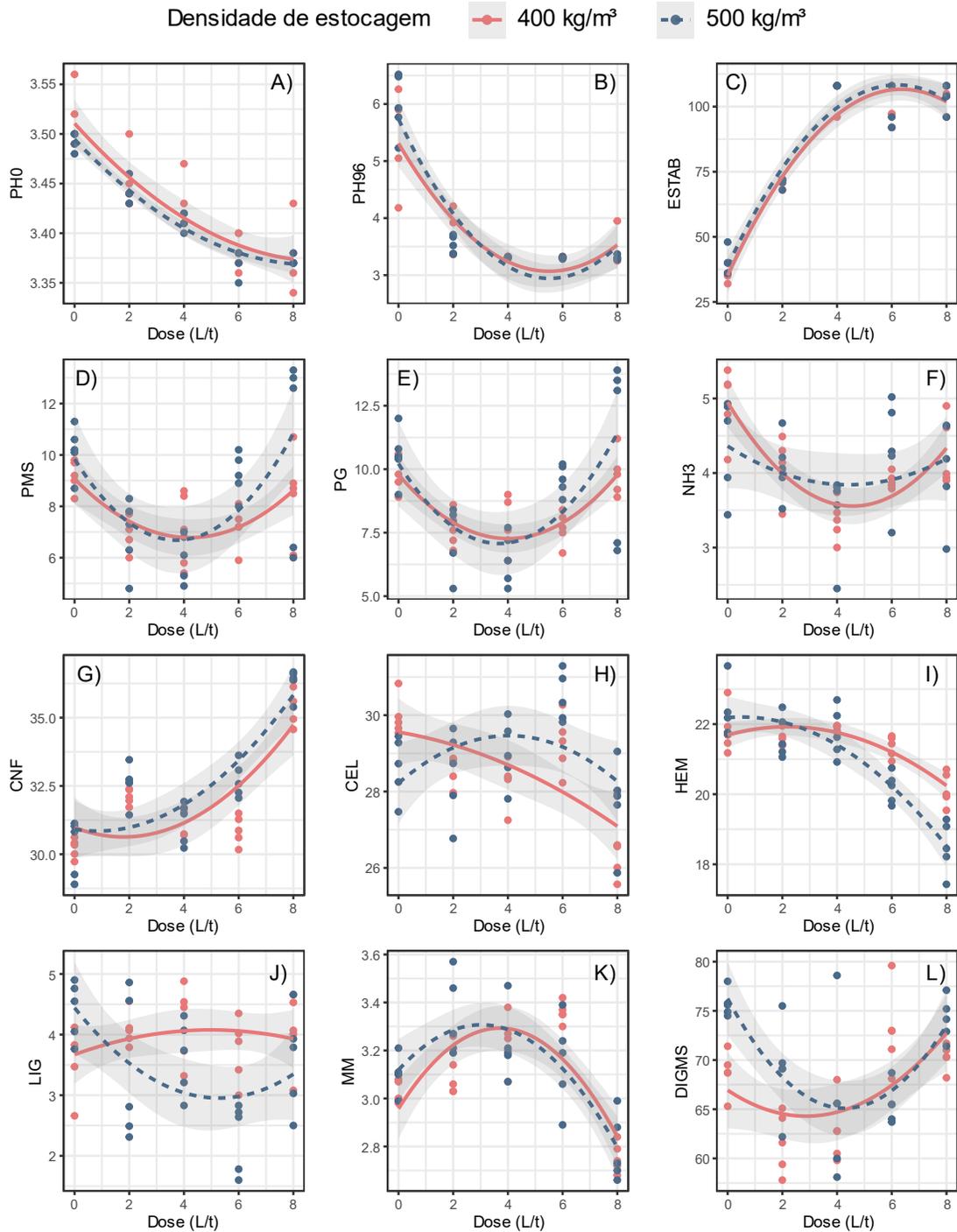
Complementarmente, as PCA das diferentes densidades em cada dosagem do bioinoculante demonstraram que a dosagem de 4 L/Ton foi a única a obter resultados mais homogêneos em ambas densidades, sendo observado através da sobreposição das elipses de cada densidade avaliada (Figura 1 – Informações Complementares).

Os modelos de regressão (Figura 3) corroboram as observações da PCA e do correlograma, fornecendo a compreensão aprofundada das correlações existentes e permitindo a seleção das variáveis que melhor explicam a influência positiva do bioinoculante em dosagens específicas na qualidade da silagem de milho. Os resultados das equações e os coeficientes de correlação se encontram na Tabela 2 (Informações Complementares).

De modo geral, os valores do pH no momento de abertura se mantiveram abaixo de 4, contudo os valores de pH da silagem sem o bioinoculante aumentaram mais de 50% após 96 h da abertura do silo, chegando a aproximadamente 5,5. Neste sentido, o pH atingiu

valores mais baixos à medida que a dosagem do bioinoculante aumentou, até a dosagem de 6 L/t, demonstrando um comportamento quadrático negativo.

Figura 3 Modelos de regressão linear e polinomial entre doses do bioinoculante e densidades de compactação da silagem de milho.



PH0 (pH na abertura); PH96 (pH após 96h), ESTAB (estabilidade aeróbica); PMS (perdas na matéria seca); (PG) perda por gases; NH3 (nitrogênio amoniacal); CNF (carboidratos não fibrosos); celulose (CEL); hemicelulose (HEM); LIG (lignina); MM (matéria mineral); (DIGMS) degradabilidade *in vitro* da matéria seca.

Em contrapartida, a estabilidade aeróbica possuiu uma curva quadrática positiva, indicando que o uso do bioinoculante prolongou a estabilidade aeróbica, uma vez que a ausência do bioinoculante (0 L/t) permaneceu estável por cerca de 37 h, enquanto que o uso do bioinoculante se mostrou eficiente em aumentar a estabilidade aeróbica, tendo as dosagens 4 e 6 L/t obtido valores superiores a 104 h. Tanto o pH quanto a estabilidade obtiveram os melhores valores entre as doses 4 e 6 L/t, indicando que dosagens muito baixas ou excessivas podem não proporcionar benefícios adicionais.

Considerando as perdas na matéria seca por gases e o nitrogênio amoniacal presente no material como os principais parâmetros que avaliaram as perdas durante o processo de ensilagem, estes possuíram curva quadrática negativa em relação à dosagem do bioinoculante. Houve redução de cerca de 7% das perdas com o aumento na dosagem até a 4 L/t, tendo o maior incremento na dosagem, aumentando as perdas.

O incremento do bioinoculante resultou em maior proporção de CNF (15%) e menor proporção de hemicelulose (10%) e celulose (13%) apenas na maior densidade, sendo levemente mais pronunciado na maior compactação. A lignina apresentou curva quadrática positiva significativa apenas na maior densidade, com redução nos valores até a inclusão de 6 L/t (30%).

A matéria mineral apresentou curva quadrática negativa, aumentando sua proporção com a adição de até 4 litros do bioinoculante por tonelada, sendo menor na sua ausência ou com a maior inclusão (8 L/t) - este efeito foi mais evidente na maior densidade.

As curvas da degradabilidade da matéria seca foram quadráticas e positivas, com a inclusão de pelo menos 6 L/t, apresentando aumento desta variável em uma menor densidade, chegando a cerca de 70% na maior dosagem. Já numa maior densidade, a adição do bioinoculante reduziu a degradabilidade em relação a não utilização deste, apresentando recuperação com pelo menos 8 litros por tonelada.

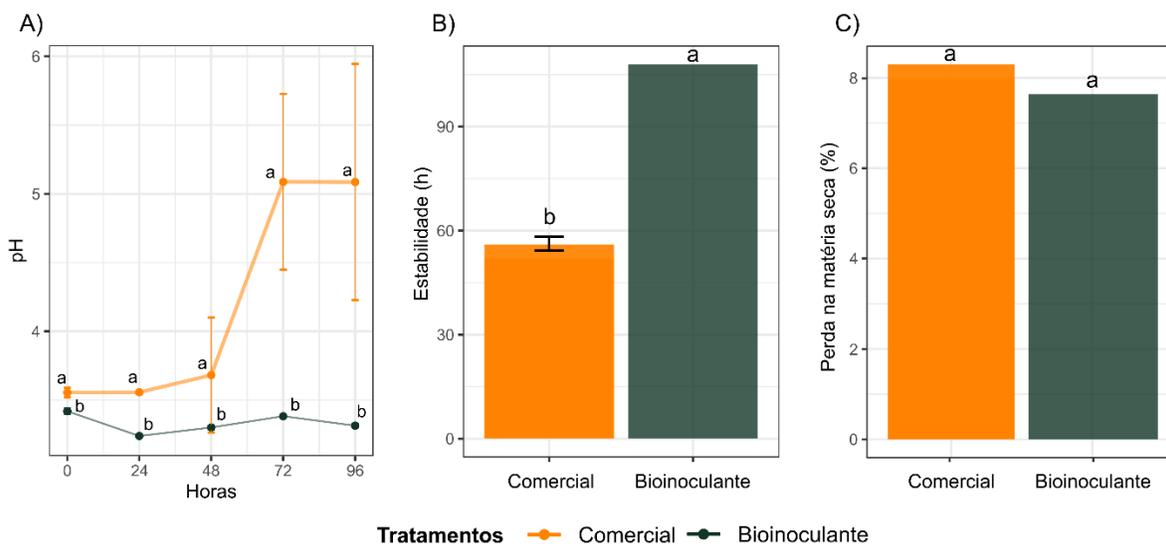
4.2. Experimento 2

A análise de componentes principais (PCA) dos produtos nas duas densidades de compactação exploradas demonstrou que os dois primeiros componentes principais

abertura do silo e menores teores de fibras digestíveis. As perdas fermentativas demonstraram comportamento intermediário entre os tratamentos.

Complementarmente à PCA, a Figura 5 ilustra as diferenças estatísticas entre as variáveis que descrevem a diferença entre as perdas e estabilidade aeróbica após a abertura do silo. Os resultados demonstram que o tratamento com o bioinoculante manteve a estabilidade aeróbica por todo período de avaliação, mantendo o pH abaixo de 4, enquanto que o tratamento comercial não proporcionou estabilidade do pH e da temperatura após 48h da abertura do silo. As perdas não diferiram entre os tratamentos, tendo ambos mantido as perdas na matéria seca abaixo de 10%.

Figura 5 Comparações entre as médias do bioinoculante e o produto comercial no teste de Tukey (5% de probabilidade) das variáveis: (A) pH em cada tempo após abertura do silo; B) Estabilidade aeróbica; (C) Perdas na matéria seca.



5. DISCUSSÃO

A utilização das ferramentas de análise multivariada, como o correlograma e a PCA, forneceram percepções valiosas sobre a estrutura subjacente dos dados, e permitiu selecionar variáveis mais eficientes para observar os resultados, otimizando os processos de compreensão dos efeitos dos tratamentos na qualidade da silagem. Estas análises também identificaram as variáveis colineares dentro das categorias funcionais propostas, possibilitando a seleção de variáveis práticas para definir a qualidade da silagem a campo.

O impacto negativo na degradabilidade do material ensilado com densidade de 400 kg/m³ foi reduzido pelo uso do bioinoculante, enquanto que na densidade de 550 kg/m³ os benefícios da inoculação foram menores. O mesmo ocorreu com a celulose, a hemicelulose e os carboidratos não fibrosos (Figuras 2 e 3). Menores densidades de compactação aumentam o oxigênio residual presente no silo, impedindo a rápida acidificação do material por bactérias lácticas anaeróbias, ocorrendo a degradação de nutrientes digestíveis, como a hemicelulose e os carboidratos não fibrosos (MUCK et al., 2018). Outros estudos que avaliaram silagens inoculadas com bactérias ácido-láticas em diferentes densidades de compactação observaram baixo efeito das densidades de compactação, devido à relação entre oxigênio residual e à presença de microrganismos, corroborando os resultados encontrados na densidade de 500 kg/m³ (HERRMANN et al., 2015; GALLO et al., 2018;)

A ausência do bioinoculante (0 L/Ton), independentemente da densidade de compactação, proporcionou os maiores valores de pH, perdas fermentativas e fibras, assim como a redução da matéria seca, dos carboidratos não fibrosos e da estabilidade aeróbica (Figuras 2 e 3). Sem bioinoculantes, a silagem depende da microbiota nativa, que pode incluir bactérias indesejáveis. Essas bactérias podem não ser eficientes na fermentação, resultando em uma menor produção de ácidos orgânicos, como o ácido láctico, que são essenciais para a redução do pH (JOBIM e NUSSIO, 2013). Estes resultados foram corroborados por outros autores, em estudos da inoculação do milho com bactérias lácticas (ARRIOLA et al., 2021; SILVA et al., 2021; SILVA et al., 2024),

Quando inoculado na maior dosagem (8 L/Ton), a silagem obteve os maiores valores de carboidratos não fibrosos e de estabilidade, entretanto com perdas de matéria seca e gases semelhantes aos tratamentos que não utilizaram os bioinoculantes (Figuras 2 e 3). Tais perdas não foram encontradas na silagem inoculada com as dosagens intermediárias (2, 4 e 6 L/Ton)

do bioinoculante, que também apresentam um bom perfil bromatológico, com maior proporção de fibras digestíveis, baixos valores de pH e boa estabilidade aeróbica após abertura do silo (Figuras 2 e 3) (ARRIOLA et al., 2021).

A maior estabilidade com maiores perdas em relação às doses intermediárias encontradas na dose de 8 L/Ton do bioinoculante (Figuras 2 e 3), pode ser explicada pela maior inoculação da forragem com *L. buchneri*, devido à maior redução do ácido láctico em ácido acético por este microrganismo, reduzindo o poder de acidificação, mas aumentando o potencial antifúngico após abertura do silo, como encontrado por Kleinschmit e Kung (2006). Já a combinação em proporções equilibradas de *L. buchneri* com *L. plantarum* nas dosagens intermediárias, converte o ácido láctico em ácido acético em menor proporção, explicando a redução das perdas fermentativas, mas mantendo a boa estabilidade após abertura. Silva et al. (2024) não encontraram diferenças nas perdas de matéria seca, quando elevou a concentração de *L. plantarum* e *L. buchneri* inoculado na silagem de grão úmido.

Frente a um produto comercial, no Experimento 2 o bioinoculante demonstrou maior potencial de aumento da estabilidade aeróbica após abertura do silo, com perdas semelhantes, mas com menores concentrações de carboidratos não fibrosos e menor degradabilidade in vitro da matéria seca (Figura 4). Isso pode estar relacionado à inoculação com *L. plantarum*, que aumenta a produção de ácido láctico e os *L. buchneri* convertem ácido láctico em ácido acético e 1,2-propanodiol, inibindo o desenvolvimento de leveduras e enterobactérias, que degradam o material durante a fermentação e após abertura do silo (MUCK et al., 2018).

O menor potencial de melhoria na estabilidade e redução das perdas do produto comercial em relação ao bioinoculante testado podem estar relacionados ao fato de haver cepas de microrganismos no mesmo produto, que competem entre si por substratos, reduzindo sua eficiência na acidificação e preservação do material e na estabilidade aeróbica após abertura do silo, que estão relacionados à maior concentração de carboidratos não fibrosos neste tratamento (MUCK et al., 2018; KUNG et al., 2018).

Os benefícios associados à redução das perdas fermentativas em conjunto com a maior estabilidade aeróbica após abertura do silo a partir da fermentação mista de produtos selecionados, com cepas específicas de bactérias ácido lácticas, inerente ao bioinoculante testado neste trabalho, demonstram a importância do seu uso na produção animal sustentável. Futuros trabalhos relacionando a produtividade dos animais ao potencial de ganhos

econômicos, bem como ao microbioma e metaboloma gerados durante e ao final do processo fermentativo, trarão resposta fundamentais à produção animal sustentável, considerando os múltiplos impactos possíveis de um bioinoculante sobre a saúde animal.

6. CONCLUSÃO

Recomenda-se a utilização do bioinoculante na dosagem de 4 L/Ton para silagem de milho, pois esta dose reduz perdas fermentativas e aumenta a estabilidade aeróbica, independentemente da densidade de compactação, evidenciando sua capacidade em modular o processo fermentativo para a rota de preservação da silagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESOGAN, A. T. 2010. **Corn silage quality in tropical climates**. p. 311-327. In: Proceedings of the 5th Symposium on strategic management of pasture. Viçosa: Brasil: UFV.
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). 2012. **Official Methods of Analysis**. 19ª edição. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, EUA.
- ARRIOLA, K.G.; OLIVEIRA, A.S.; JIANG, Y.; KIM, D.; SILVA, H.M.; KIM, S.C.; AMARO, F.X.; OGUNADE, I.M.; SULTANA, H.; CERVANTES A.A.P.; FERRARETTO, L.F.; VYAS, D.; ADESOGAN A.T. 2021. Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 104:7653–7670. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19647>
- ASSIS, F. G. V.; AVILA, C. L. S.; PINTO, J. C.; SCHWAN, R. F. 2014. New inoculants on maize silage fermentation. **Revista Brasileira de Zootecnia** 43(8): 395–403. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000800001>.
- BERNARDES, T. F. 2016. **Advances in silage sealing**. p. 53-62. In: Silva, T; Santos E. M. eds. Advances in silage production and utilization. Rijeka, Croácia: InTech. DOI: <https://doi.org/10.5772/65445>
- BERNARDES, T. F.; CARDOSO, M. V. S.; LIMA, L. M. 2018. **Silage feeding programs on intensive dairy farms**. In: 2018 Annual Meeting of the American Dairy Science Association, 2018, Knoxville, EUA.
- BERNARDES, T. F.; CARVALHO, I. Q.; SILVA, N. C. 2012. **A snapshot of maize silage quality on dairy farms in South Brazil**. p. 322-323. In: Kuoppala, K.; Rinne, M; Vanhatalo, A. eds. Proceedings of the XVI International Silage Conference. Hämeenlinna, Finlândia.
- BERNARDES, T. F.; DO RÊGO, A. C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**. 97(3): 1852–1861. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7181>.
- BOLSEN, K. K.; LIN, C.; BRENT, E; FEVERHERM, A. M.; URBAN, J. E.; AIMUTIS, W. R. 1992. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, 75: 3066-3083. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78070-9](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78070-9).
- BRÜNING, D.; GERLACH, K.; WEIß, K.; SÜDEKUM, K.H. 2018. Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. **Grass and Forage Science**. 73(1): 53–66. <https://doi.org/10.1111/gfs.12288>.
- BUENO, J. L.; BOLSON, D. C.; JACOVACI, F. A.; GOMES, A. L. M.; JOBIM, C. C.; DANIEL, J. L. P. 2017. **Maturity interacts with length of storage to affect ruminal disappearance of starch in mechanically unprocessed corn silage**. In: Nussio, L. G.; Sousa, D. O.; Gritti, V. C.; Salvati, G. G. S.; Santos W. P.; Salvo P. A. R. eds. Proceedings of the V International Symposium on Forage Quality and Conservation. Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- CARVALHO, I. Q.; STRACK, M. 2015. **Evolution of corn silage quality in the Campos Gerais region – Brazil**. p. 476-477. In: Daniel, J. L. P.; Morais, G.; Junges, D.; Nussio L. G. eds. Proceedings of the XVII International Silage Conference. Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- CONAB. 2023. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 12 fev. 2023.
- COSTA, D. M.; SOUZA, V. C.; FERNANDEZ, L. A.; SANTOS, A. O.; SCHWAN, R. F.; AVILA, C. L. S. 2017. Screening of lactic acid bacteria for enhancing quality of corn silage. In: 54ª. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 706p. PS061. Foz do Iguacu. **Anais...** Foz do Iguacu, Paraná, Brasil.
- DANIEL, J. L. P.; JUNGES, D.; NUSSIO, L. G. 2015₁. **A meta-analysis of the effects of length of storage on starch digestibility and aerobic stability of corn silages**. p. 306-307. In: Daniel, J. L. P.; Morais, G.; Junges, D.; Nussio L. G. eds. Proceedings of the XVII International Silage Conference. Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- DANIEL, J. L. P.; JUNGES, D.; SANTOS, M. C.; KLEINSHMITT, C.; NUSSIO, L. G. 2015₂. **Emissions of ethanol and acetic acid in corn silages inoculated with *Lactobacillus buchneri***. p. 372-373. In: Daniel, J. L. P.; Morais, G.; Junges, D.; Nussio L. G. eds. Proceedings of the XVII International Silage Conference. Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. 1993. **Rosenberger., exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 420p.
- FERREIRA, D. J.; LANA, R. P.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M.; VELOSO, C. M.; RIBEIRO G. A. 2013. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus*

- bovis. **Animal Feed Science and Technology**. 183(1-2): 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.020>.
- GALLO, A.; BERTUZZI, T.; GIUBERTI, G.; MOSCHINI, M.; BRUSCHI, S.; CERIOLI, C.; MASOERO, F. 2016. New assessment based on the use of principal factor analysis to investigate corn silage quality from nutritional traits, fermentation end products and mycotoxins. **Journal of the Science Food and Agriculture**. 96(2): 437–448. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7109>.
- GALLO, A.; BERNARDES, T.F.; COPANI, G.; FORTUNATI, P.; GIUBERTI, G.; BRUSCHI, S.; BRYAN, K.A.; NIELSEN, N.G.; WITT, K.L.; MASOERO, F. 2018. Effect of inoculation with *Lactobacillus buchneri* LB1819 and *Lactococcus lactis* O224 on fermentation and mycotoxin production in maize silage compacted at different densities. **Animal Feed Science and Technology**. Volume 246, December 2018, Pages 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.09.009>
- GANZORIG, O.; SUMISA, F.; BATDORJ, B.; YOSHIDA, T. 2016. Isolation and identification of new lactic acid bacteria with potent biological activity and yeasts in airag, a traditional Mongolian fermented beverage. **Food Science and Technology Research**. 22(5): 575–582. <https://doi.org/10.3136/fstr.22.575>.
- GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. 1970. **Forage fiber analysis**: Apparatus, reagents, procedures and some applications (Agricultural Handbook, 379). USDA, Washington, EUA.
- HEGUY, J. M.; MEYER, D.; SILVA-DEL-RÍO, N. 2016. A survey of silage management practices on California dairies. **Journal of Dairy Science**. 99(2): 1649-1654. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10058>.
- HENTZ F.; VELHO J.P.; NÖRNBERG J.L.; HAYGERT-VELHO I.M.P.; HENZ E.L.; HENN J.D.; PERIPOLLI V.; ZARDIN P.B. 2017. Fractionation of carbohydrates and nitrogenous constituents of late-crop corn silages ensiled with different specific masses. **Semina: Ciências Agrárias** 38(1): 491–502. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n1p491>.
- Herrmann, C.; Idler, C; Heiermann, M. 2015. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. **Bioresource Technology**. 197: 393-403. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.114>
- JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G. 2013. **Princípios básicos da fermentação na ensilagem**. p. 649-660. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F. E SIQUEIRA, G.R. eds. Forragicultura: ciência, tecnologia e gestão de recursos forrageiros. Multipress. Jaboticabal, São Paulo, Brasil.
- JOBIM C.C; NUSSIO LG; REIS RA; SCHMIDT P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia** 36: 101–119. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000013>.
- KASSAMBARA, A; MUNDT, F. 2020. **factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses**. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/factoextra/index.html>. Acesso em: 15 jan. 2024.
- KLEINSCHMIT, D. H.; 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 **Journal of dairy science**. 89:4005–4013. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72444-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4)
- KLEINSCHMIT, D. H.; SCHMIDT, R. J.; KUNG JR, L. 2005. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of dairy science** 88(6): 2130-2139. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(05\)72889-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(05)72889-7).
- KROONEMAN J.; FABER F.; ALDERKAMP A.C.; OUDE ELFERINK S.J.H.W.; DRIEHUIS, F.; CLEENWERCK I.; SWINGS J.C.; GOTTSCHAL J.C.; VANCANNEYT M. 2002. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 52: 639–646. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-639>
- KRÜGER A.M.; JOBIM C.C.; CARVALHO I.Q.; MORO J.G. 2017. A simple method for determining maize silage density on farms. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales** 5(2): 94-99 [https://doi.org/10.17138/tgft\(5\)94-99](https://doi.org/10.17138/tgft(5)94-99).
- KUNG JR, L.; ROBINSON, RANJIT J. R.; N. K.; CHEN J. H.; GOLT, C. M.; PESEK, J. D. 2000. Microbial populations, fermentation end products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of dairy science**. 83(7):1479–1486. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(00\)75020-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(00)75020-x).
- KUNG JR, L.; SHAVER, R. D.; GRANT, R. J.; GARRETT, J. E. 2018. Silage review: Factors affecting dry matter and nutrient recovery in corn silage. **Journal of Dairy Science**. 101(5): 4026-4042. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>.
- LARA, E. C., F. C. BASSO, F. B. DE ASSIS, F. A. SOUZA, T. T. BERCHIELLI, AND R. A. REIS. 2016. Changes in the nutritive value and aerobic stability of corn silages inoculated with *Bacillus subtilis* alone or

- combined with *Lactobacillus plantarum*. **Animal Production Science**. 56:1867–1874. <https://doi.org/10.1071/AN14686>.
- LIU, B.; YANG, Z.; HUAN, H.; GU, H.; XU, N.; DING, C. 2020. Impact of molasses and microbial inoculants on fermentation quality, aerobic stability, and bacterial and fungal microbiomes of barley silage. **Scientific Reports** 10: 5342 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62290-7>.
- LIU, Q. H., F. Y. YANG, J. G. ZHANG, AND T. SHAO. 2014. Characteristics of *Lactobacillus parafarraginis* ZH1 and its role in improving the aerobic stability of silages. **Journal of Applied Microbiology**. 117: 405–416. <https://doi.org/10.1111/jam.12530>.
- MCALLISTER, T. A.; HRISTOV, A. N. 2000. The fundamentals of making good quality silage. **Advances in Dairy Technology**. 12: 381-399.
- MUCK, R. E.; NADEAU, E. M. G.; MCALLISTER, T. A. ; CONTRERAS-GOVEA, F. E.; SANTOS, M. C.; L. KUNG JR, L. 2018. Silage review: Recent advances and future uses of silage aditives **J. Dairy Sci**. 101:3980–4000. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>
- PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. O.; SPOELSTRA, S. F. 2003. **Microbiology of ensiling**. p. 31-93. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON J. H. org (v. 42). Silage science and technology. ASA, CSSA, e SSSA, Madison, WI, EUA. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr42.c2>.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. 1991. **The biochemistry of silage**. 2ª edição. 340p. Bucks, Reino Unido: Chalcombe publications. <https://doi.org/doi:10.1017/S0014479700023115>.
- MORAES, S. D.; JOBIM, C. C.; SILVA, M. S.; MARQUARDT, F. I. 2013. Produção e composição química de híbridos de sorgo e de milho para silagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. 14(4): 624-634.
- MOORE, K. J.; JUNG, H. J. G. 2001. Lignin and fiber digestion. **Journal of Range Management**. 54: 420–430. <https://doi.org/10.2307/4003113>.
- MOULD, F.; MORGAN, R.; KLIEM, K.; KRYSTALLIDOU, E. 2005. A review and simplification of the in vitro incubation médium. **Animal Feed Science and Technology**. 123: 155-172. <https://doi.org/doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.05.002>.
- MULROONEY, C. N., & KUNG, L. JR. 2008. The effect of water temperature on the viability of silage inoculants. **Journal of Dairy Science** 91: 236–240. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0449>.
- NOVINSKI, C. O. **Composição de micotoxinas e bromatologia de silagens de milho em silos de grande porte utilizando imagens em infravermelho**. 2013. 85 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- NEGRÃO, F. M.; ZANINE, A. M.; SOUZA, A. L.; CABRAL, L. S.; FERREIRA, D. J.; DANTAS, C. C. O. 2016. Perdas, perfil fermentativo e composição química das silagens de capim *Brachiaria decumbens* com inclusão de farelo de arroz. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal** 17(1): 13-25. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402016000100002>.
- OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D. 2014. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology** 197: 64–75. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.010>.
- OLIVEIRA, A. S., WEINBERG Z. G.; OGUNADE I. M.; CERVANTES, A. A. P.; ARRIOLA, K. G.; JIANG Y.; ... ADESOGAN T. 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. **Journal of Dairy Science**. 100: 4587–4603. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11815>.
- PINTO, A. C. J., MILLEN, D. D. 2016. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: X SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE (SIMCORTE), 103–120p. 1. Viçosa. **Anais... Viçosa: UFV**.
- POLUKIS, S. A.; SMITH, M. L.; SAVAGE, R. M.; BENJAMIM E.S.; LAUBACH, A.; GRAY, A.; KUNG JR, L. 2016. The effect of microbial inoculants on the aerobic stability of high moisture corn. **Journal of Dairy Science** 99(1): 678. <https://doi.org/10.2527/jam2016-0678>.
- RAUN, B. M. L.; KRISTENSEN, N. B. 2010. Propanol in maize silage at Danish dairy farms. **Acta Agriculturae Scandinavica A** 60: 53–59. <https://doi.org/10.1080/09064701003796742>.
- R Project**. 2023. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em 15 jan. 2024.
- RUMSEY, D. J. 2016. **How to interpret a correlation coefficient r**. In: Statistics For Dummies. 2ª edição. 416p. Indiana, EUA: Wiley Publishing, Inc.
- SALVATI G.G.S.; SANTOS W.P.; SILVEIRA J.M.; GRITTI V.C.; ARTHUR B.A.V.; SALVO P.A.R.; FACHIN L.; RIBEIRO A.P.; ... NUSSIO L.G. 2021. Effect of kernel processing and particle size of whole-

- plant corn silage with vitreous endosperm on dairy cow performance. **Journal of Dairy Science**. 104(2):1794-1810. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19428>.
- SCHMIDT, P.; SOUZA, C.M.; BACH, B.C. 2014. Uso estratégico de aditivos em silagens: quando usar e como usar. In: SIMPÓSIO: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 5. 2014, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM.
- SENGER, C.C.D.; KOZLOSKI, G.V.; SANCHEZ, L.M.B.; MESQUITA, F.R.; ALVES, T.P.; CASTAGNINO, D.S. 2008. Evaluation of autoclave procedures for fiber analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology** 146: 169-174.
- SILVA, E.B.; COSTA, D.M.; SANTOS, E.M.; MOYER, K.; HELTINGS, E.; KUNG JR, L. 2021. The effects of *Lactobacillus hilgardii* 4785 and *Lactobacillus buchneri* 40788 on the microbiome, fermentation, and aerobic stability of corn silage ensiled for various times. **J. Dairy Sci.** 104: 10678–10698. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-20111>
- SILVA, E.B.; POLUKIS, S.A.; SMITH, M. L.; VOSHELL, R.S.; LEGGETT, M.J.; JONES, P.B.; KUNG JR, L. 2024. The use of *Lentilactobacillus buchneri* PJB1 and *Lactiplantibacillus plantarum* MTD1 on the ensiling of whole-plant corn silage, snaplage, and high-moisture corn. **J. Dairy Sci.** 107:883–901. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23672>
- SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S.; ROE, M.B.; SKIDMORE, A.L.; BLACK, J.R. 1993. Nutrient requirement versus supply in dairy cow: Strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**: 76 (10): 3160-3178. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-302\(93\)77655-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-302(93)77655-9).
- THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; MCALLAN, A. B.; FRANCE, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**. 48 (3-4): 185-197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6).
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science** 74: 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- WANG, C.; XU, Y.; ZHANG, X.; WANG, M. YU, Z. 2020. Effects of wilting and different particle sizes on the fermentation quality, aerobic stability and ruminal in vitro digestibility of corn silage. **Journal of Dairy Science**, 103(1): 844-856. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16812>.
- WEI, T.; SIMKO, V.; LEVY, M.; XIE, Y.; JIN, Y.; ZEMLA, J.; FREIDANK, M.; CAI, J.; PROTIVINSKY, T. 2021. **corrplot: Visualization of a Correlation Matrix**. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/corrplot/index.html>. Acesso em: 15 jan. 2024.
- WEISS, K.; KROSCHEWSKI, B.; AUERBACH, H. 2016. Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. **Journal of Dairy Science** 99: 8053–8069. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10323>.
- XINXIN L., YAN H., QIWEI Z., CHENGCHEN J. 2021. Structural Features and Digestibility of Corn Starch With Different Amylose Content. **Frontiers in Nutrition**. 8 (2021). <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.692673>

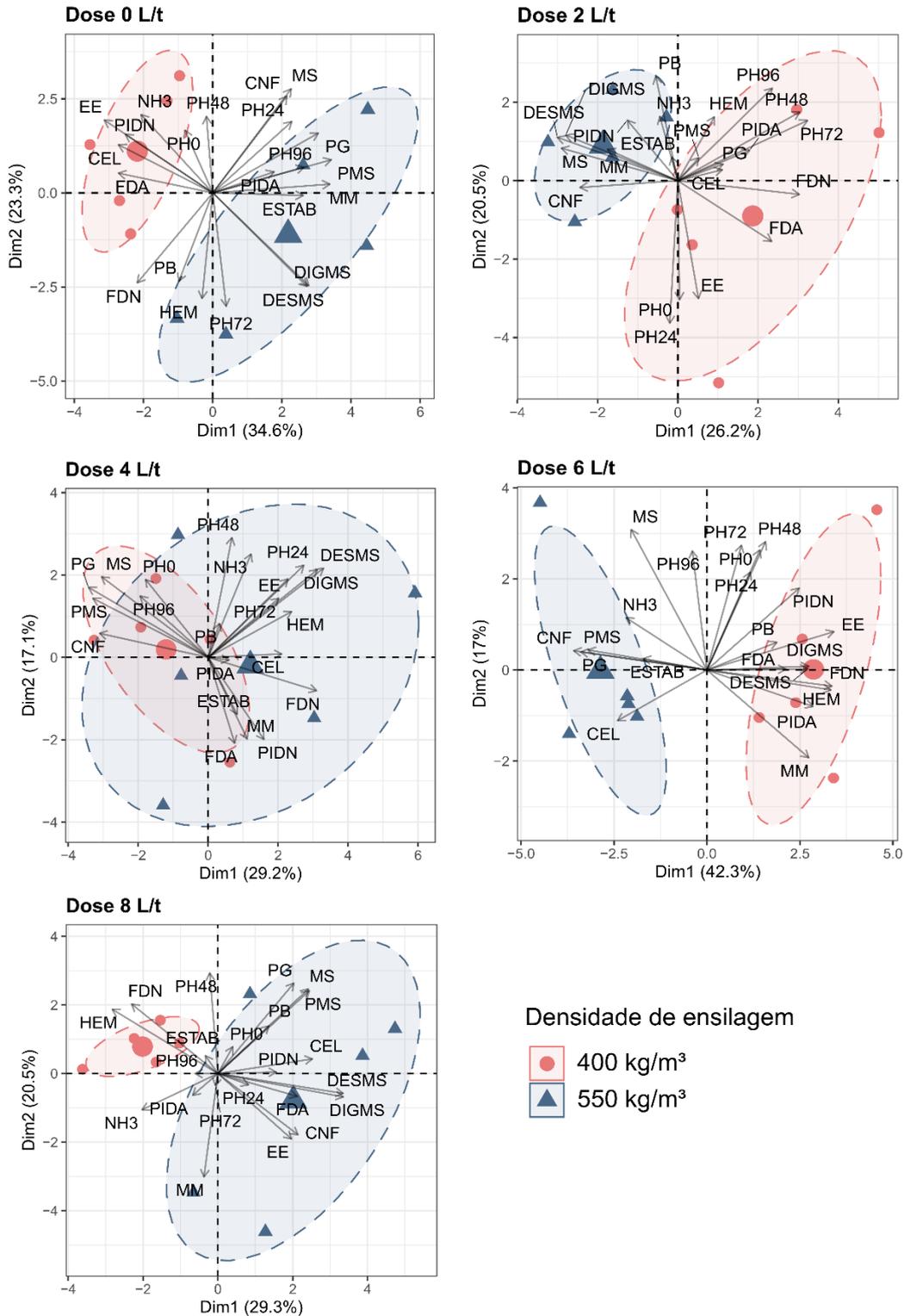
INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

Tabela 1 Análise de variância (ANOVA) das variáveis considerando o efeito das dosagens do bioinoculante, das diferentes densidades e da interação entre elas.

| Variáveis | | Efeito da Dose | | | Efeito da Densidade | | Efeito da Interação | | |
|---|--|---------------------------------|---------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-------------|
| Descrição | Unidade | Sigla | Valor F | Pr (>F) ¹ | Valor F | Pr (>F) ¹ | Valor F | Pr (>F) ¹ | |
| Perfil bromatológico | Matéria seca | % | MS | 45.2749 | <0.0001 *** | 4.3540 | 0.04334 * | 2.4926 | 0.0582 . |
| | Matéria mineral | % | MM | 29.0370 | <0.0001 *** | 0.6562 | 0.4227 | 4.4759 | 0.0044 ** |
| | Extrato etéreo | % | EE | 47.6279 | <0.0001 *** | 0.3569 | 0.5536 | 14.4074 | <0.0001 *** |
| | Fibra em detergente neutro | % | FDN | 104.6298 | <0.0001 *** | 12.8680 | 0.0009 *** | 2.8178 | 0.0377 * |
| | Fibra em detergente ácido | % | FDA | 45.5049 | <0.0001 *** | 1.0454 | 0.3127 | 4.6769 | 0.0034 ** |
| | Hemicelulose | % | HEM | 41.3507 | <0.0001 *** | 9.6229 | 0.0003 *** | 6.6469 | 0.0035 ** |
| | Celulose | % | CEL | 16.0399 | <0.0001 *** | 2.2093 | 0.1450 | 4.3099 | 0.0054 ** |
| | Lignina | % | LIG | 3.2819 | 0.0204 * | 5.8623 | 0.0201 * | 3.6405 | 0.0127 * |
| | Carboidrato não fibroso | % | CNF | 111.2539 | <0.0001 *** | 10.5302 | 0.0024 ** | 3.5977 | 0.0135 * |
| | Proteína Bruta | % | PB | 77.4969 | <0.0001 *** | 0.0747 | 0.7861 | 1.2997 | 0.2866 |
| | Proteína indigestível em detergente neutro | % | PIDN | 45.2484 | <0.0001 *** | 1.2125 | 0.2774 | 4.9810 | 0.0024 ** |
| | Proteína indigestível em detergente ácido | % | PIDA | 9.5987 | <0.0001 *** | 2.9956 | 0.0912 . | 1.4967 | 0.2214 |
| | degradabilidade <i>in vitro</i> | degradabilidade da matéria seca | % | DIGMS | 10.0662 | <0.0001 *** | 6.6787 | 0.0135* | 6.5058 |
| Desaparecimento da matéria seca | | % | DESMS | 10.9240 | <0.0001 *** | 7.6237 | 0.0086** | 7.0466 | 0.0002*** |
| Perdas fermentativas | Perdas na matéria seca | % | PMS | 8.0779 | <0.0001 *** | 2.4904 | 0.1224 | 1.6776 | 0.1742 |
| | Perdas por efluentes | % | PE | 3.5613 | 0.0141 * | 10.5502 | 0.0024 ** | 1.5182 | 0.2152 |
| | Perdas por gases | % | PG | 11.0751 | <0.0001 *** | 1.1188 | 0.2965 | 1.7388 | 0.1605 |
| Estabilidade e pH após abertura do silo | Nitrogênio Amoniacal | % | NH3 | 7.4225 | 0.0001 *** | 0.1123 | 0.7393 | 1.2962 | 0.2879 |
| | Estabilidade aeróbica pós abertura | Horas | ESTAB | 408.2125 | <0.0001 *** | 3.2567 | 0.07867 . | 0.8709 | 0.4898 |
| | pH no momento de abertura do silo | UpH | PH0 | 66.5507 | <0.0001 *** | 3.1152 | 0.0852 . | 0.1774 | 0.9487 |
| | pH 24 horas após abertura do silo | UpH | PH24 | 522.8191 | <0.0001 *** | 0.0049 | 0.9446 | 0.7995 | 0.5327 |
| | pH 48 horas após abertura do silo | UpH | PH48 | 23.9764 | <0.0001 *** | 0.9690 | 0.3308 | 0.7134 | 0.5877 |
| | pH 72 horas após abertura do silo | UpH | PH72 | 388.7666 | <0.0001 *** | 0.0007 | 0.9792 | 1.1917 | 0.3293 |
| | pH 96 horas após abertura do silo | UpH | PH96 | 86.1030 | <0.0001 *** | 0.3562 | 0.5540 | 1.3508 | 0.2682 |

¹Códigos dos valores de significância: <0.001 ‘***’; 0.001 ‘**’; 0.01 ‘*’; 0.05 ‘.’; 0.1 ‘.’

Figura 1 Gráficos de dispersão dos componentes principais das diferentes densidades em cada dose do bioinoculante aplicada na silagem de milho.



MS (Matéria seca); MM (Matéria mineral); EE (Extrato etéreo); FDN e FDA (Fibra em detergente neutro e ácido, respectivamente); HEM (Hemicelulose); CEL (Celulose); LIG (Lignina); CNF (Carboidrato não fibroso); PB (Proteína Bruta); PIDN e PIDA (Proteína indigestível em detergente neutro e ácido, respectivamente); DESMS e DIGMS (desaparecimento e degradabilidade *in vitro* da matéria seca, respectivamente); PMS (Perdas na matéria seca); PG (Perdas por efluentes); PG (Perdas por gases); NH₃ (Nitrogênio Amoniacal); ESTAB (Estabilidade aeróbica); PH₀, PH₂₄, PH₄₈, PH₇₂ e PH₉₆ (pH no momento de abertura, após 24h, após 48h, após 72h, após 96h, respectivamente).

Tabela 2 Equações e coeficientes de determinação dos modelos de regressão entre as doses do bioinoculante e as densidades de compactação das variáveis selecionadas.

| Variáveis | Equação (400 kg/m ³) | Equação (550 kg/m ³) | R ² (400 kg/m ³) | R ² (550 kg/m ³) |
|-----------|--------------------------------------|-------------------------------------|---|---|
| MM | $Y = -0,025x^2 + 0,181x + 2,958$ | $Y = -0,025x^2 + 0,125x + 3,12$ | 0,6856 | 0,6233 |
| HEM | $Y = -0,050x^2 + 0,215x + 21,69$ | $Y = -0,066x^2 + 0,068x + 22,19$ | 0,9127 | 0,9780 |
| CEL | $Y = -0,024x^2 + 0,120x + 29,56$ | $Y = 28,79$ | 0,5921 | - |
| LIG | $Y = 3,93$ | $Y = 0,067x^2 - 0,650x + 4,42$ | - | 0,6809 |
| CNF | $Y = 0,106x^2 - 0,383x + 30,99$ | $Y = 0,097x^2 - 0,162x + 30,92$ | 0,6527 | 0,9031 |
| DIGMS | $Y = 0,321x^2 - 1,839x + 66,93$ | $Y = 0,608x^2 - 5,206x + 76,25$ | 0,4590 | 0,9605 |
| PMS | $Y = 0,1779x^2 - 1,3889x + 9,4529$ | | 0,8975 | |
| PG | $Y = 0,1948x^2 - 1,4851x + 10,005$ | | 0,9439 | |
| NH3 | $Y = 0,0466x^2 - 0,4222x + 4,6553$ | | 0,7562 | |
| ESTAB | $Y = -1,7905x^2 + 22,4740x + 36,970$ | | 0,9571 | |
| PH0 | $Y = 0,0017x^2 - 0,0298x + 3,5026$ | | 0,9929 | |
| pH96 | $Y = 0,0829x^2 - 0,9139x + 5,5246$ | | 0,9198 | |